



**FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA**

Implementação e Validação de Amostradores Passivos na Monitorização de Metais em Águas Superficiais e Águas para Consumo Humano

Inês Fernandes Duarte

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Química Bioorgânica

Orientador: Dr. João Paiva

Co-orientador: Professora Doutora Elvira Gaspar

Março 2018



**FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA**

Implementação e Validação de Amostradores Passivos na Monitorização de Metais em Águas Superficiais e Águas para Consumo Humano

Inês Fernandes Duarte

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Química Bioorgânica

Orientador: Dr. João Paiva

Co-orientador: Professora Doutora Elvira Gaspar

Júri:

Presidente:

Orientador: Dr. João Paiva

Vogais:

Março 2018

Implementação e Validação de Amostradores Passivos na Monitorização de Metais em Águas Superficiais e Águas para Consumo Humano

Copyright © Inês Fernandes Duarte, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objectivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Esta dissertação foi redigida ao abrigo do antigo Acordo Ortográfico

Agradecimentos

A elaboração desta tese de mestrado careceu de um esforço, disciplina e dedicação pessoal, mas contou igualmente com a inestimável colaboração, apoio e tutoria daqueles que tornaram possível a realização deste labor. Assim, manifesto o meu apreço e agradecimento ao meu orientador Dr. João Paiva pelo apoio, aconselhamento, motivação e orientação essencial para a elaboração de um trabalho desta natureza, bem como pela partilha do conhecimento e experiência prática na área laboratorial de análise das águas.

Manifesto, ainda, o sincero agradecimento à direcção da EPAL pela oportunidade concedida, ao longo do último ano, de realizar nas suas instalações o estágio, pela disponibilização de equipamentos e partilha de know-how e aos funcionários pela simpatia, experiência e disponibilidade, em particular, toda a equipa de Química Inorgânica do Laboratório Central da EPAL, no qual destaco o Dr. André Miranda e Dra. Sandra Luís pelos conhecimentos transmitidos e críticas pertinentes, pelo esclarecimento de dúvidas, acompanhamento e interesse no meu trabalho, à Dra. Susana Lopes pela amizade, companhia e boa disposição e à auxiliar Isabel Marreiros, por todo o tempo dispensado a ajudar-me a lavar e descontaminar material e, finalmente, ao Eng. André Oliveira pelos seus préstimos na criação de suportes para amostradores passivos em impressão 3D.

À professora doutora Elvira Gaspar agradeço a oportunidade que me concedeu de realizar esta dissertação, bem como todo o apoio, paciência e disponibilidade para a revisão deste trabalho, que contribuíram, decisivamente, para a sua clareza e objectividade.

Por último, à minha família e amigos, especialmente à minha irmã, aos meus pais, à Joana Vargas e ao Fadhil Musa por me manterem motivada, mentalmente sã, e me alegrarem nos momentos mais difíceis, sem o seu apoio incondicional esta dissertação não seria possível e ao Bruno Lopes por todo o carinho, compreensão e sentido de humor.

A todos o meu profundo reconhecimento e agradecimento.

Resumo

Esta dissertação de mestrado resulta de um protocolo de colaboração estabelecido entre a Empresa Portuguesa de Águas Livres, SA. (EPAL) e a Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa (FCT/UNL). O principal objectivo consistiu na implementação e validação de amostradores passivos na monitorização de metais em águas superficiais e águas para consumo humano. Para tal, foram avaliados os amostradores passivos *Diffusive Gradients in Thin-Films - Metals* (DGT-Me) e *Diffusive Gradients in Thin-Films - Arsenik* (DGT-As) como métodos complementares à amostragem pontual na análise de metais em águas superficiais.

O estudo envolveu a digestões por placa de aquecimento e por digestor por microondas como métodos de extracção, bem como o polímero mais indicado para a construção de suportes de amostradores passivos sem contaminação de metais.

Ao todo foram analisados 22 metais (Li, Be, Al, V, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Sr, Mo, Ag, Sn, Cd, Sb, Ba, Tl, Pb e U), para os quais foram determinados coeficientes de difusão bem como os limites analíticos da metodologia de amostragem passiva por *Diffusive Gradients in Thin-Films* (DGT) associada à digestão em digestor por microondas como método de extracção. Observou-se que os amostradores passivos DGT-As detectam outros metais além do arsénio (Cr, Se, Sb).

Os resultados obtidos sugerem que os amostradores passivos DGT são adequados como método complementar da amostragem pontual para a monitorização de metais em águas para consumo humano.

Palavras-chave: monitorização de metais; águas para consumo humano; amostragem passiva; DGT.

Abstract

This Master thesis was done under a protocol established between Empresa Portuguesa de Águas Livres, SA. (EPAL) and Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa (FCT/UNL). The main purpose was to study *Diffusive Gradients in Thin-Films* passive samplers (DGT) as a sampling tool for monitoring metals in drinking and surface waters. *Diffusive Gradients in Thin-Films - Metals* (DGT-Me) and *Diffusive Gradients in Thin-Films - Arsenik* (DGT-As) were evaluated as complementary sampling methods to metals study by traditional sampling of drinking and surface waters.

The extraction method was studied applying digestion by heating plate or by microwave digester. Furthermore, the most suitable polymer for passive sampler support was chosen, guarantying no risk of metal contamination during DGT exposure.

A total of 22 metals (Li, Be, Al, V, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Sr, Mo, Ag, Sn, Cd, Sb, Ba, Tl, Pb and U) were studied. Diffusion coefficients and analytical limits were determined using microwave digestion as the extraction method. It was verified that DGT-As samplers detect metals other than arsenic (Cr, Se, Sb).

Results suggest that DGT passive samplers can be used as a complementary tool of traditional sampling for monitoring metals in drinking and surface waters.

Keywords: metal monitoring; drinking water; passive sampling; DGT.

Índice de Matérias

Agradecimentos.....	II
Resumo	III
Abstract.....	V
Índice de Figuras	IX
Índice de Tabelas	XIII
Abreviaturas	XV
1 Introdução.....	1
1.1 Água	1
1.1.1 Categorização da água	2
1.1.2 Empresa das Águas Livres de Portugal, SA. – EPAL	2
1.1.3 Enquadramento Legal	5
1.2 Constituintes químicos: metais.....	7
1.2.1 Especificação de metais	8
1.2.2 Importância biológica.....	9
1.2.3 Biodisponibilidade e toxicidade	9
1.3 Técnicas de Amostragem.....	10
1.3.1 Amostragem Pontual	11
1.3.2 Amostragem Passiva.....	13
1.4 Análise de metais	24
1.4.1 ICP-OES	24
1.4.2 ICP-MS	24
1.5 Validação de um método analítico	32
1.5.1 Avaliação Directa.....	32
1.5.2 Avaliação Indirecta	33
1.5.3 Incerteza Global do Método	36
2 Materiais e métodos	39
2.1 Pesagem e Micropipetagem.....	39
2.2 Reagentes e soluções	40
2.2.1 Soluções análise ICP-MS.....	41
2.2.2 Soluções análise ICP-OES.....	43

2.3	Amostragem Passiva.....	44
2.3.1	Dispositivos utilizados	44
2.3.2	Colocação dos amostradores na matriz.....	45
2.3.3	Recolha e desmontagem dos amostradores.....	50
2.3.4	Escolha do método de extracção	50
2.3.5	Determinação dos coeficientes de difusão.....	53
2.4	Amostragem Pontual	56
2.4.1	Montagem laboratorial.....	56
2.4.2	Reservatório dos Olivais.....	56
2.4.3	Albufeira e ETA de Santa Águeda.....	56
2.4.4	Filtração de amostras	56
2.5	Determinação dos limites analíticos	57
2.6	Análise de metais	58
2.6.1	Análise por ICP-MS	58
2.6.2	Análise por ICP-OES.....	62
2.7	Lavagem e Limpeza do Material	63
2.8	Análise de Incertezas	63
3	Resultados e Discussão	65
3.1	Avaliação da influência do suporte dos amostradores passivos.....	65
3.2	Escolha do método de extracção	67
3.3	Determinação dos Limites Analíticos	71
3.4	Validação da digestão por microondas como método de extracção.....	73
3.5	Determinação dos coeficientes de difusão.....	74
3.6	Amostragem Passiva.....	83
3.6.1	Ensaio Laboratorial.....	83
3.6.2	Ensaio no Reservatório dos Olivais.....	88
3.6.3	ETA de Santa Águeda.....	91
3.6.4	Albufeira de Santa Águeda.....	93
4	Conclusão.....	97
	Bibliografia	99

Índice de Figuras

FIGURA 1.1 - REDE DE DISTRIBUIÇÃO DE ÁGUA ¹⁶	3
FIGURA 1.2 - ORGANOGRAMA DA EPAL ¹⁷	4
FIGURA 1.3 - EFEITOS NEGATIVOS DE ALGUNS METAIS NO CORPO HUMANO ⁵⁶	10
FIGURA 1.4 - REPRESENTAÇÃO DOS VÁRIOS MÉTODOS DE RECOLHA DE AMOSTRAS PONTUAIS ⁵⁶	11
FIGURA 1.5 - CLASSIFICAÇÃO DE AMOSTRADORES PASSIVOS ⁷⁰	14
FIGURA 1.6 - REPRESENTAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ANALITOS AO LONGO DO TRAJECTO DE DIFUSÃO, DESDE A ÁGUA ATÉ À FASE RECEPTORA DO AMOSTRADOR PASSIVO ⁵⁸	14
FIGURA 1.7 - ACUMULAÇÃO DE ANALITOS NUM AMOSTRADOR PASSIVO AO LONGO DO TEMPO ⁵⁸	15
FIGURA 1.8 - ILUSTRAÇÃO DE UM DGT ⁷²	17
FIGURA 1.9 - CONCENTRAÇÃO DE ESPÉCIES IÓNICAS NA ÁGUA (C_B), E AO LONGO DOS COMPONENTES DO AMOSTRADOR PASSIVO ⁷⁴	17
FIGURA 1.10 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA CINÉTICA DE ACUMULAÇÃO DURANTE A EXPOSIÇÃO DE UM AMOSTRADOR PASSIVO ⁷⁰	18
FIGURA 1.11 - ESTRUTURA DA RESINA CHELEX-100 EM FUNÇÃO DO PH ⁸³	20
FIGURA 1.12 - ESTRUTURA MOLECULAR DE POLIACRILAMIDA ⁸⁷	21
FIGURA 1.13 - ESTRUTURA DO POLÍMERO DE ABS ⁸⁸	22
FIGURA 1.14 - ESQUEMA DOS CONSTITUINTES DO ICP-MS ¹⁰¹	25
FIGURA 1.15 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO SISTEMA DE FORMAÇÃO DO PLASMA EM ICP-MS ¹⁰¹	26
FIGURA 1.16 - ZONAS DE DIFERENTES TEMPERATURAS DO PLASMA NO ICP-MS ¹⁰¹	27
FIGURA 1.17 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DE UMA SECÇÃO TRANSVERSAL DA REGIÃO DE INTERFACE E DO TOPO DA TOCHA ¹⁰¹	28
FIGURA 1.18 - CIRCUITO DE DETECÇÃO DO SINAL POR DOIS MODOS ¹⁰¹	29
FIGURA 1.19 - ESQUEMA DOS VÁRIOS TIPOS DE INTERFERÊNCIAS EM ICP-MS.....	30
FIGURA 2.1 – BALANÇA, AT200 DA METTLER TOLEDO, DE RESOLUÇÃO 0,0001G.....	39
FIGURA 2.2 - BALANÇA, PB 3002-S DA METTLER TOLEDO, DE RESOLUÇÃO 0,01G.....	39
FIGURA 2.3 - ESQUEMA DE UM DESTILADOR DE ÁCIDO ¹⁰³	40
FIGURA 2.4 - IMPRESSORA 3D DO LABORATÓRIO CENTRAL DA EPAL.....	45
FIGURA 2.5 - A) PROCESSO DE IMPRESSÃO DE PLA; B) SUPORTE CIRCULAR (ABS); C) SUPORTE PORTÁTIL (ABS).....	46
FIGURA 2.6 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA ESTAÇÃO ELEVATÓRIA DOS OLIVAIS.....	47
FIGURA 2.7 - LOCAL DE COLOCAÇÃO DOS AMOSTRADORES PASSIVOS NO RESERVATÓRIO DOS OLIVAIS. À ESQUERDA, A SUPERFÍCIE DA CÉLULA I DO RESERVATÓRIO, À DIREITA, O RESPIRADOURO UTILIZADO.....	48
FIGURA 2.8 - LOCALIZAÇÃO DA ETA E ALBUFEIRA DE SANTA ÁGUEDA, COM OS LOCAIS DE INSTALAÇÃO DOS AMOSTRADORES PASSIVOS E RECOLHA DE AMOSTRAS PONTUAIS ASSINALADOS A VERMELHO.....	48
FIGURA 2.9 - LOCAL DE COLOCAÇÃO DOS AMOSTRADORES PASSIVOS NA ALBUFEIRA DE SANTA ÁGUEDA, À ESQUERDA, A CASA DE ÁGUA, À DIREITA, A COLOCAÇÃO DOS AMOSTRADORES PASSIVOS.....	49
FIGURA 2.10 - LOCAL DE COLOCAÇÃO DOS AMOSTRADORES PASSIVOS NA ETA DE SANTA ÁGUEDA.....	49

FIGURA 2.11 - AMOSTRADOR PASSIVO DGT-ME PROVENIENTE DA ALBUFEIRA DE SANTA ÁGUEDA, COM IMPUREZAS VISÍVEIS.	50
FIGURA 2.12 - DESMONTAGEM DE UM DGT-As.	50
FIGURA 2.13 - OS OITO AMOSTRADORES DGT PRESOS POR NYLON A UM SUPORTE.....	51
FIGURA 2.14 - MONTAGEM DO ENSAIO NA ESTUFA.	52
FIGURA 2.15 - A) ESQUEMA DA MONTAGEM DE MATERIAL UTILIZADO PARA SIMULAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE UMA MATRIZ REAL; B) MONTAGEM DO MATERIAL; C) SUPORTE EM ROTAÇÃO PARA ESTABILIZAÇÃO DA SOLUÇÃO.....	54
FIGURA 2.16 - SISTEMA DE FILTRAÇÃO DE AMOSTRAS.....	57
FIGURA 2.17 - EQUIPAMENTO DE ICP-MS, THERMO SERIES II, E AMOSTRADOR AUTOMÁTICO, INSTALADOS NO LABORATÓRIO CENTRAL DA EPAL.....	59
FIGURA 2.18 - NEBULIZADOR CONCÊNTRICO ¹²⁶	59
FIGURA 2.19 - SEQUÊNCIA ANALÍTICA DO ICP-MS; PC – PADRÃO DE CONTROLO; MRC – MATERIAL DE REFERÊNCIA CERTIFICADO.....	61
FIGURA 2.20 - EQUIPAMENTO DE ICP-OES, ICAP 6000 SERIES DA <i>THERMO ELEMENTAL</i> , E AMOSTRADOR AUTOMÁTICO INSTALADO NO LABORATÓRIO CENTRAL DA EPAL.	62
FIGURA 2.21 - SEQUÊNCIA ANALÍTICA DO ICP-OES; PC – PADRÃO DE CONTROLO.....	63
FIGURA 2.22 - DIAGRAMA DE <i>ISHIKAWA</i> , QUE ILUSTRA A INFLUÊNCIA DAS VÁRIAS FONTES DE INCERTEZA NA CONCENTRAÇÃO DE METAIS OBTIDA PELA AMOSTRAGEM VIA DGT E ANÁLISE EM ICP.....	64
FIGURA 3.1 – COMPARAÇÃO ENTRE OS COEFICIENTES DE DIFUSÃO PARA ALUMÍNIO SEGUNDO A LITERATURA ^(44,66,75) E OBTIDOS EXPERIMENTALMENTE (LEITURA POR ICP-MS).	77
FIGURA 3.2 - COMPARAÇÃO ENTRE OS COEFICIENTES DE DIFUSÃO PARA ALUMÍNIO SEGUNDO A LITERATURA ^(66,75) E OBTIDOS EXPERIMENTALMENTE (LEITURA POR ICP-OES).	77
FIGURA 3.3 - COMPARAÇÃO ENTRE OS COEFICIENTES DE DIFUSÃO PARA VANÁDIO SEGUNDO A LITERATURA ^(44,66,75) E OBTIDOS EXPERIMENTALMENTE (LEITURA POR ICP-MS).	77
FIGURA 3.4 - COMPARAÇÃO ENTRE OS COEFICIENTES DE DIFUSÃO PARA COBALTO SEGUNDO A LITERATURA ^(44,66,75) E OBTIDOS EXPERIMENTALMENTE (LEITURA POR ICP-MS).	78
FIGURA 3.5 - COMPARAÇÃO ENTRE OS COEFICIENTES DE DIFUSÃO PARA NÍQUEL SEGUNDO A LITERATURA ^(44,66,75) E OBTIDOS EXPERIMENTALMENTE (LEITURA POR ICP-MS).	78
FIGURA 3.6 - COMPARAÇÃO ENTRE OS COEFICIENTES DE DIFUSÃO PARA COBRE SEGUNDO VÁRIOS A LITERATURA ^(44,66,75) E OBTIDOS EXPERIMENTALMENTE (LEITURA POR ICP-MS).	78
FIGURA 3.7 - COMPARAÇÃO ENTRE OS COEFICIENTES DE DIFUSÃO PARA ZINCO SEGUNDO A LITERATURA ^(44,66,75) E OBTIDOS EXPERIMENTALMENTE (LEITURA POR ICP-MS).	79
FIGURA 3.8 - COMPARAÇÃO ENTRE OS COEFICIENTES DE DIFUSÃO PARA ZINCO SEGUNDO A LITERATURA ^(44,66,75) E OBTIDOS EXPERIMENTALMENTE (LEITURA POR ICP-OES).	79
FIGURA 3.9 - COMPARAÇÃO ENTRE OS COEFICIENTES DE DIFUSÃO PARA ESTRÔNCIO SEGUNDO A LITERATURA ⁽⁷⁵⁾ E OBTIDOS EXPERIMENTALMENTE (LEITURA POR ICP-MS).	79
FIGURA 3.10 - COMPARAÇÃO ENTRE OS COEFICIENTES DE DIFUSÃO PARA MOLIBDÊNIO SEGUNDO A LITERATURA ^(44,66,75) E OBTIDOS EXPERIMENTALMENTE (LEITURA POR ICP-MS).	80

FIGURA 3.11 - COMPARAÇÃO ENTRE OS COEFICIENTES DE DIFUSÃO PARA PRATA SEGUNDO A LITERATURA (^{44,75}) E OBTIDOS EXPERIMENTALMENTE (LEITURA POR ICP-MS).....	80
FIGURA 3.12 - COMPARAÇÃO ENTRE OS COEFICIENTES DE DIFUSÃO PARA CÁDMIO SEGUNDO A LITERATURA (^{44,66,75}) E OBTIDOS EXPERIMENTALMENTE (LEITURA POR ICP-MS).	80
FIGURA 3.13 - COMPARAÇÃO ENTRE OS COEFICIENTES DE DIFUSÃO PARA BÁRIO SEGUNDO A LITERATURA (⁷⁵) E OBTIDOS EXPERIMENTALMENTE (LEITURA POR ICP-MS).	81
FIGURA 3.14 - COMPARAÇÃO ENTRE OS COEFICIENTES DE DIFUSÃO PARA CHUMBO SEGUNDO A LITERATURA (^{44,66,75}) E OBTIDOS EXPERIMENTALMENTE (LEITURA POR ICP-MS).	81
FIGURA 3.15 - COMPARAÇÃO ENTRE OS COEFICIENTES DE DIFUSÃO PARA URÂNIO SEGUNDO A LITERATURA (^{44,75}) E OBTIDOS EXPERIMENTALMENTE (LEITURA POR ICP-MS).....	81
FIGURA 3.16 - COMPARAÇÃO ENTRE OS COEFICIENTES DE DIFUSÃO PARA ARSÊNIO SEGUNDO A LITERATURA (⁸²) E OBTIDOS EXPERIMENTALMENTE (LEITURA POR ICP-MS).....	82
FIGURA 3.17 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ALUMÍNIO OBTIDA ATRAVÉS DE AMOSTRAS PONTUAIS E UTILIZANDO AMOSTRADORES PASSIVOS (LEITURA EM ICP-MS).....	84
FIGURA 3.18 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ALUMÍNIO OBTIDA ATRAVÉS DE AMOSTRAS PONTUAIS E UTILIZANDO AMOSTRADORES PASSIVOS (LEITURA EM ICP-OES).	84
FIGURA 3.19 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE VANÁDIO OBTIDA ATRAVÉS DE AMOSTRAS PONTUAIS E UTILIZANDO AMOSTRADORES PASSIVOS (LEITURA EM ICP-MS).....	84
FIGURA 3.20 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE COBALTO OBTIDA ATRAVÉS DE AMOSTRAS PONTUAIS E UTILIZANDO AMOSTRADORES PASSIVOS (LEITURA EM ICP-MS).....	85
FIGURA 3.21 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE NÍQUEL OBTIDA ATRAVÉS DE AMOSTRAS PONTUAIS E UTILIZANDO AMOSTRADORES PASSIVOS (LEITURA EM ICP-MS).....	85
FIGURA 3.22 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE COBRE OBTIDA ATRAVÉS DE AMOSTRAS PONTUAIS E UTILIZANDO AMOSTRADORES PASSIVOS (LEITURA EM ICP-MS).....	85
FIGURA 3.23 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ZINCO OBTIDA ATRAVÉS DE AMOSTRAS PONTUAIS E UTILIZANDO AMOSTRADORES PASSIVOS (LEITURA EM ICP-MS).....	86
FIGURA 3.24 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ESTRÔNCIO OBTIDA ATRAVÉS DE AMOSTRAS PONTUAIS E UTILIZANDO AMOSTRADORES PASSIVOS (LEITURA EM ICP-MS).....	86
FIGURA 3.25 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE MOLIBDÊNIO OBTIDA ATRAVÉS DE AMOSTRAS PONTUAIS E UTILIZANDO AMOSTRADORES PASSIVOS (LEITURA EM ICP-MS).....	86
FIGURA 3.26 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CÁDMIO OBTIDA ATRAVÉS DE AMOSTRAS PONTUAIS E UTILIZANDO AMOSTRADORES PASSIVOS (LEITURA EM ICP-MS).....	87
FIGURA 3.27 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE BÁRIO OBTIDA ATRAVÉS DE AMOSTRAS PONTUAIS E UTILIZANDO AMOSTRADORES PASSIVOS (LEITURA EM ICP-MS).....	87
FIGURA 3.28 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CHUMBO OBTIDA ATRAVÉS DE AMOSTRAS PONTUAIS E UTILIZANDO AMOSTRADORES PASSIVOS (LEITURA EM ICP-MS).....	87
FIGURA 3.29 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE URÂNIO OBTIDA ATRAVÉS DE AMOSTRAS PONTUAIS E UTILIZANDO AMOSTRADORES PASSIVOS (LEITURA EM ICP-MS).....	88
FIGURA 3.30 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ARSÊNIO OBTIDA ATRAVÉS DE AMOSTRAS PONTUAIS E UTILIZANDO AMOSTRADORES PASSIVOS (LEITURA EM ICP-MS).....	88

FIGURA 3.31 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE NÍQUEL NA ÁGUA DO RESERVATÓRIO DOS OLIVAIS; NAS AMOSTRAS PONTUAIS E NOS AMOSTRADORES PASSIVOS; LEITURA EM ICP-MS.....	89
FIGURA 3.32 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE COBRE NA ÁGUA DO RESERVATÓRIO DOS OLIVAIS; NAS AMOSTRAS PONTUAIS E NOS AMOSTRADORES PASSIVOS; LEITURA EM ICP-MS.....	89
FIGURA 3.33 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ZINCO NA ÁGUA DO RESERVATÓRIO DOS OLIVAIS; NAS AMOSTRAS PONTUAIS E NOS AMOSTRADORES PASSIVOS; LEITURA EM ICP-MS.....	90
FIGURA 3.34 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ESTRÔNCIO NA ÁGUA DO RESERVATÓRIO DOS OLIVAIS; NAS AMOSTRAS PONTUAIS E NOS AMOSTRADORES PASSIVOS; LEITURA EM ICP-MS.....	90
FIGURA 3.35 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE BÁRIO NA ÁGUA DO RESERVATÓRIO DOS OLIVAIS; NAS AMOSTRAS PONTUAIS E NOS AMOSTRADORES PASSIVOS; LEITURA EM ICP-MS.....	90
FIGURA 3.36 – COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ALUMÍNIO NA ÁGUA DA ETA DE SANTA ÁGUEDA: AMOSTRAS PONTUAIS E AMOSTRADORES PASSIVOS; LEITURA EM ICP-MS.....	91
FIGURA 3.37 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE NÍQUEL NA ÁGUA DA ETA DE SANTA ÁGUEDA: AMOSTRAS PONTUAIS E AMOSTRADORES PASSIVOS; LEITURA EM ICP-MS.....	92
FIGURA 3.38 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ESTRÔNCIO NA ÁGUA DA ETA DE SANTA ÁGUEDA: AMOSTRAS PONTUAIS E AMOSTRADORES PASSIVOS; LEITURA EM ICP-MS.....	92
FIGURA 3.39 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ARSÊNIO NA ÁGUA DA ETA DE SANTA ÁGUEDA: AMOSTRAS PONTUAIS E AMOSTRADORES PASSIVOS; LEITURA EM ICP-MS.....	92
FIGURA 3.40 – COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ALUMÍNIO NA ÁGUA DA ALBUFEIRA DE SANTA ÁGUEDA: AMOSTRAS PONTUAIS E AMOSTRADORES PASSIVOS; LEITURA EM ICP-MS.....	93
FIGURA 3.41 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ESTRÔNCIO NA ÁGUA DA ALBUFEIRA DE SANTA ÁGUEDA: AMOSTRAS PONTUAIS E AMOSTRADORES PASSIVOS; LEITURA EM ICP-MS.....	94
FIGURA 3.42 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE BÁRIO NA ÁGUA DA ALBUFEIRA DE SANTA ÁGUEDA: AMOSTRAS PONTUAIS E AMOSTRADORES PASSIVOS; LEITURA EM ICP-MS.....	94
FIGURA 3.43 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ARSÊNIO NA ÁGUA DA ALBUFEIRA DE SANTA ÁGUEDA: AMOSTRAS PONTUAIS E AMOSTRADORES PASSIVOS; LEITURA EM ICP-MS.....	94

Índice de Tabelas

TABELA 1.1 - CLASSIFICAÇÃO DOS METAIS ^{32,35}	7
TABELA 1.2 - ABUNDÂNCIA DE ALGUNS ELEMENTOS NA CROSTA TERRESTRE, OCEANO, PLASMA SANGUÍNEO E TECIDOS OU CÉLULAS DE MAMÍFEROS ³⁶	8
TABELA 1.3 - MÉTODOS DE PRESERVAÇÃO DE AMOSTRAS DE ÁGUA ⁵⁸	13
TABELA 2.1 - LISTAGEM DOS PADRÕES COMERCIAIS UTILIZADOS NA TÉCNICA DE ICP-MS E COMO REFORÇO DE SOLUÇÕES PARA FINS DE ENSAIOS LABORATORIAIS ¹⁰⁹	41
TABELA 2.2 – CONCENTRAÇÃO DE METAIS NUMA AMOSTRA FORTIFICADA COM ELEMENTOS VESTIGIAIS (MRC 23.4). AS INCERTEZAS APRESENTADAS CORRESPONDEM À INCERTEZA EXPANDIDA COM INTERVALO DE CONFIANÇA DE 95%.	43
TABELA 2.3 - LISTAGEM DOS PADRÕES COMERCIAIS UTILIZADOS NA TÉCNICA DE ICP-OES ¹⁰⁰	44
TABELA 2.4 - QUADRO-RESUMO DAS CARACTERÍSTICAS E COMPONENTES DOS AMOSTRADORES PASSIVOS UTILIZADOS.....	45
TABELA 2.5 - TEOR DE METAIS ADICIONADOS À SOLUÇÃO DE TESTE DE POLÍMEROS.....	46
TABELA 2.6 -CONCENTRAÇÕES DE METAIS ADICIONADOS À ÁGUA DE TORNEIRA.....	54
TABELA 2.7 - PARÂMETROS INSTRUMENTAIS UTILIZADOS DURANTES AS MEDIÇÕES POR ICP-MS ¹⁰⁹	59
TABELA 2.8 - PARÂMETROS E EQUAÇÕES DE CORRECÇÃO UTILIZADAS PARA CADA ISÓTOPO ANALISADO ¹⁰⁹	60
TABELA 2.9 - PARÂMETROS UTILIZADOS NO ICP-OES ¹⁰⁰	62
TABELA 3.1 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MÉDIA DE METAIS NA ÁGUA DE CONTROLO (ÁGUA 1) E ÁGUA APÓS EXPOSIÇÃO AO POLÍMERO DE PLA (ÁGUA 2).....	65
TABELA 3.2 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO MÉDIA DE METAIS NA ÁGUA DE CONTROLO (ÁGUA 1) E NA ÁGUA APÓS EXPOSIÇÃO AO POLÍMERO DE ABS (ÁGUA 3).....	66
TABELA 3.3 – COMPARAÇÃO DO LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO UTILIZANDO BRANCOS, E O TEOR DE METAIS EM ÁGUA EXPOSTA A UM AMOSTRADOR PASSIVO COM O LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO INSTRUMENTAL.....	68
TABELA 3.4 – AVALIAÇÃO DO MELHOR MÉTODO DE EXTRACÇÃO DE METAIS (DIGESTÃO POR PLACA DE AQUECIMENTO VS DIGESTÃO POR MICROONDAS), NA ÁGUA DE EXTRACÇÃO DE AMOSTRADORES PASSIVOS.....	69
TABELA 3.5 - EFICIÊNCIA RELATIVA DA EXTRACÇÃO VIA DIGESTÃO POR PLACA DE AQUECIMENTO, CONSIDERANDO A DIGESTÃO DE MICROONDAS COMO REFERÊNCIA.....	70
TABELA 3.6 – CONCENTRAÇÃO DE METAIS NO 5º PONTO DA RECTA DE CALIBRAÇÃO DO ICP-MS.....	71
TABELA 3.7 - LIMITES DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO VIA DIGESTÃO POR MICROONDAS.....	72
TABELA 3.8 – VALIDAÇÃO DA DIGESTÃO POR MICROONDAS COMO MÉTODO DE EXTRACÇÃO PARA CADA METAL ANALISADO, ESTUDO DA RECUPERAÇÃO.....	73
TABELA 3.9 - VALIDAÇÃO DA DIGESTÃO POR MICROONDAS COMO MÉTODO DE EXTRACÇÃO PARA CADA METAL ANALISADO, ATRAVÉS DA ANÁLISE DE PERDAS DA CONCENTRAÇÃO DE METAIS NA ÁGUA.....	74
TABELA 3.10 - COEFICIENTES DE DIFUSÃO DETERMINADOS EXPERIMENTALMENTE.....	75
TABELA 3.11 – COMPARAÇÃO DOS COEFICIENTES DE DIFUSÃO DA LITERATURA COM OS OBTIDOS EXPERIMENTALMENTE, A 25°C.....	76

TABELA 3.12 - COEFICIENTES DE DIFUSÃO CALCULADOS UTILIZANDO A EQUAÇÃO (22) E O COEFICIENTE DE DIFUSÃO OBTIDO EXPERIMENTALMENTE A 25°C.	83
TABELA 3.13 - CONCENTRAÇÃO DE METAIS NA ÁGUA DO RESERVATÓRIO DOS OLIVAIS; TRÊS COLHEITAS PONTUAIS E UTILIZANDO AMOSTRADORES PASSIVOS.	89
TABELA 3.14 - CONCENTRAÇÃO DE METAIS NA ÁGUA DA ETA DE SANTA ÁGUEDA: COLHEITAS PONTUAIS E AMOSTRADORES PASSIVOS.....	91
TABELA 3.15 - CONCENTRAÇÃO DE METAIS NA ÁGUA DA ALBUFEIRA DE SANTA ÁGUEDA: COLHEITAS PONTUAIS E AMOSTRADORES PASSIVOS.	93

Abreviaturas

ABS – Acrilonitrilo butadieno estireno
ALVT – Águas de Lisboa e Vale do Tejo
APA – (instituição) Agência Portuguesa do Ambiente
APA – (gel) Poliacrilamida Reticulada com Bis-acrilamida
CC – Corrente Contínua
DBL – *Diffusion Boundary Layer*
DET – *Diffusive Equilibrium in Thin-Films*
DGT – *Diffusive Gradients in Thin-Films*
DGT- As – *Diffusive Gradients in Thin-Films - Arsenik*
DGT- Me – *Diffusive Gradients in Thin-Films - Metals*
DGS – Direcção Geral de Saúde
EPA – *United States Environmental Protection Agency*
EPAL – Empresa de Águas Livres de Portugal, SA.
ERSAR - Entidade Reguladora de Serviços de Água e Resíduos
ETA – Estação de Tratamento de Água
HEPA - *High Efficiency Particulate Arrestance*
ICP-AES – *Inductively Coupled Plasma – Atomic Emission Spectroscopy*
ICP-OES – *Inductively Coupled Plasma – Optic Emission Spectroscopy*
ICP-MS – *Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry*
IEC – *International Electrotechnical Commission*
IPAC – Instituto Português de Acreditação
ISO - *International Organization for Standardization*
IUPAC – *International Union of Applied Chemistry*
k – Factor de Expansão
LAB - Direcção de Laboratórios e Controlo da Qualidade da Água
LD – Limite de Detecção
LQ – Limite de Quantificação
MRC – Material de Referência Certificado
m/z – Razão massa/carga
NQA – Norma de Qualidade Ambiental
NQA-MA – Norma de Qualidade Ambiental Média Anual
NQA-CMA – Norma de Qualidade Ambiental - Concentração Média Anual
PC – Padrão de Controlo
PCQA - Plano de Controlo da Qualidade da Água no Sistema de Abastecimento da EPAL
PLA - Ácido Polilático
PSA – Plano de Segurança da Água
OMS – Organização Mundial de Saúde
RF – Radiofrequência

U – Incerteza expandida

U_c – Incerteza combinada

u.m.a. – Unidade de Massa Atômica

1 Introdução

1.1 Água

A água é uma substância fundamental à vida no planeta Terra. Os seres vivos são maioritariamente constituídos por esta substância, com mais de 70% do seu peso em água. Sem esta, os processos orgânicos que possibilitam a absorção de nutrientes e a excreção de resíduos não seriam possíveis, bem como inúmeras reacções e processos que necessitam de um meio aquoso para ocorrer nos tecidos e células dos organismos ¹⁻³.

Na Antiguidade, Tales de Mileto afirmou que a água é a matéria principal da natureza, defendendo que a água tinha a potencialidade de gerar todo o cosmos ⁴. Mais tarde, Empédocles propôs a existência de quatro elementos que seriam responsáveis pela criação de tudo através da sua combinação: ar, terra, água e fogo⁵. As grandes civilizações estabeleceram-se junto a grandes rios e a sua prosperidade era completamente dependente destes ¹.

Em 1781, Henry Cavendish descobriu a composição química da água (2 partes de hidrogénio para 1 parte de oxigénio) e a água deixou de ser considerada um elemento e passou a ser considerada uma substância ⁶. Durante os séculos seguintes as propriedades físico-químicas e as funções biológicas da água foram estudadas.

Actualmente, a água é uma substância que está constantemente presente no quotidiano do ser humano: na alimentação, nas tarefas domésticas, no saneamento e nos cuidados básicos de higiene. A nível económico a água também possui extrema importância, nomeadamente para a indústria e na produção de energia eléctrica¹. A nível celular sabe-se que desempenha funções na organização estrutural de proteínas e ácidos nucleicos. Influencia a especificidade, estereoquímica e termodinâmica da ligação de proteínas aos seus ligandos, facilita a actividade de enzimas, bem como as transferências de prótons/electrões entre moléculas e hidrata a dupla hélice de DNA ⁷.

O acesso a água potável é um factor importante de desenvolvimento regional e nacional. Ao longo da história da humanidade várias foram as tentativas e os métodos de obtenção de água potável. O registo mais antigo de métodos de tratamento de água remonta a 2000 A.C. e menciona métodos de aquecimento e filtração para a purificação da água ^{8,9}.

Nos séculos XVII e XVIII a filtração tornou-se um dos métodos preferenciais para a purificação da água. No século XIX tornou-se claro que a qualidade da água tem um forte impacto na saúde humana. A água contaminada e o saneamento insuficiente ou inadequado causam o surgimento de doenças como a cólera, diarreia, disenteria, hepatite A, febre tifóide e poliomielite. A má gestão de resíduos industriais, urbanos e agrícolas pode potenciar a contaminação ou poluição química da água¹⁰.

Após a revolução industrial, a poluição da água aumentou, pelo que o desenvolvimento de novos sistemas de tratamento de água tornou-se urgente. Surgiu a necessidade da criação de leis, normas e entidades que regulassem e monitorizassem a qualidade das águas ^{11,12}. A Organização Mundial de Saúde (OMS) é a autoridade internacional que aconselha os governos

no desenvolvimento de regulamentação e edita directrizes que servem de referência a nível mundial ¹⁰. Cada país possui as suas próprias entidades que devem garantir a qualidade da água.

Conclui-se que o consumo de água é imprescindível, no entanto, a poluição crescente dos meios aquáticos compromete a qualidade da água. Não só por uma questão de segurança de consumo humano, mas também de segurança ambiental, as águas devem ser monitorizadas.

1.1.1 Categorização da água

As águas podem ser classificadas de várias formas, consoante a sua origem, a sua qualidade, a sua composição química ou de acordo com a sua finalidade.

Para este estudo, a classificação mais relevante é a que tem por fim o consumo humano, ou seja, a água doce disponível no planeta para utilização humana. Nesta categoria, existem apenas dois tipos de água que cumprem estes requisitos: águas superficiais e águas subterrâneas.

1.1.1.1 Águas superficiais

As águas superficiais correspondem a toda a água que se acumula e é escoada sobre o solo. Em Portugal, e na maior parte dos países, as águas superficiais são a principal fonte de água destinada ao consumo humano¹³.

1.1.1.2 Águas subterrâneas

Classificam-se como águas subterrâneas toda a água armazenada em aquíferos. A sua quantidade varia com os fenómenos de precipitação, evapotranspiração, extracção, variações na pressão atmosférica, alterações do regime de escoamento, efeitos de maré, entre outros. Existe alguma permuta entre as águas subterrâneas e as águas superficiais, pelo que a poluição de uma afecta a outra ¹⁴.

1.1.2 Empresa das Águas Livres de Portugal, SA. – EPAL

A Empresa das Águas Livres de Portugal, SA. (EPAL) pertence ao sector empresarial do Estado e é detida pela AdP – Águas de Portugal, SGPS, SA., encontrando-se sujeita ao enquadramento legal disposto no Decreto-Lei 133/2013.

A missão da EPAL é conceber, construir, explorar e gerir os sistemas de abastecimento de água e de saneamento sob a sua responsabilidade, assegurando a gestão delegada do sistema multimunicipal de abastecimento de água e de saneamento de Lisboa e Vale do Tejo (ALVT) nos termos da legislação em vigor, garantindo a sustentabilidade ambiental, social, cultural e económica, contribuindo para a melhoria da qualidade de vida dos consumidores e do desenvolvimento socioeconómico das regiões onde actua ¹⁵.

Até 1935 a EPAL, sucessora da Companhia das Águas de Lisboa, limitava-se ao abastecimento e distribuição de água no concelho de Lisboa, tendo alargado gradualmente a sua rede de acção aos seguintes municípios: Oeiras, Cascais, Azambuja, Vila Franca de Xira, Sintra, Loures, Odivelas, Alenquer, Alcanena, Santarém, Arruda dos Vinhos, Sobral de Monte Agraço, Cartaxo, Amadora, Mafra,

Torres Vedras, Entroncamento, Torres Novas, Ourém, Vila Nova da Barquinha, Tomar, Constância, Porto de Mós, Leiria, Batalha, Alcobaça, Bombarral, Cadaval, Caldas da Rainha, Lourinhã, Óbidos, Peniche, Rio Maior e Nazaré. Actualmente, é responsável pela gestão delegada da ALVT que integra 86 municípios^{15,16}. O fornecimento é feito através de mais de 100 pontos de entrega, a 18 entidades gestoras de sistemas de abastecimento de água para consumo humano.



Figura 1.1 - Rede de distribuição de água ¹⁶.

O sistema de abastecimento engloba o sistema de produção e transporte e o sistema de distribuição. É gerido através de um sistema de telegestão que controla todos os processos de produção da água para consumo humano e que apresenta toda a informação em tempo útil nos Centros de Comando.

A água captada é principalmente de origem superficial, sendo recolhida na albufeira de Castelo de Bode e na margem direita do rio Tejo, em Valada, pode ainda ter origem subterrânea através das 20 captações localizadas em Alenquer, Lezírias e Ota.

Após captação, a água é aduzida ao sistema de produção e transporte pelos adutores de Castelo de Bode e do Tejo. Este sistema é constituído por 3 subsistemas dotados de 2 estações de tratamento de água, 31 estações elevatórias, 28 reservatórios e 20 postos de cloragem. A água produzida é transportada aos clientes através do aqueduto de Alviela, do adutor de Vila Franca de Xira-Telheiras, do adutor de Circunvalação e do adutor da Costa do Sol ¹⁷.



Figura 1.2 - Organograma da EPAL ¹⁷.

Uma das maiores preocupações da EPAL é a garantia da qualidade da água ao longo de todo o sistema de abastecimento. A Direcção de Laboratórios e Controlo da Qualidade da Água (LAB) é o órgão responsável pela concepção, implementação e gestão do Plano de Controlo da Qualidade da Água no Sistema de Abastecimento da EPAL (PCQA). Este é estabelecido anualmente, tendo em conta o cumprimento da legislação em vigor, a protecção da saúde do consumidor e o nível de segurança da prestação do serviço ¹⁷.

Actualmente, a EPAL tem dois laboratórios de ensaio integrados na Direcção de Laboratórios e Controlo da Qualidade da Água, um localizado em Lisboa e o outro na ETA de Vale da Pedra. Ambos dotados de equipamentos de última geração e de recursos humanos altamente qualificados, permitindo a realização dos ensaios obrigatórios na legislação em vigor segundo critérios de controlo de qualidade rigorosos, garantido a precisão e exactidão dos resultados.

O Laboratório de Lisboa tem quatro áreas analíticas: Química Orgânica, Química Inorgânica, Microbiologia e Biologia e Ensaio a Materiais. O Laboratório de Vale da Pedra tem três áreas analíticas: Química Orgânica, Química Inorgânica e Microbiologia e Biologia ¹⁷.

Com sede na Avenida de Berlim, 15, 1800-031, Lisboa, a Direcção de Laboratórios e Controlo da Qualidade da Água está acreditada desde 1999 segundo a norma ISO/IEC 17025:2005 – Requisitos gerais de competência para laboratórios de ensaio e calibração, para a colheita, preservação e transporte de amostras de águas para consumo humano, análise de 110 parâmetros de controlo de qualidade da água, aplicação de 135 métodos de ensaio e 6 métodos de teste a materiais orgânicos em contacto com a água para consumo humano. A validade desta acreditação é verificada periodicamente pelo Instituto Português de Acreditação (IPAC) ¹⁷.

Seguindo as metodologias da Organização Mundial da Saúde (OMS), a EPAL, em 2007, implementou um Plano de Segurança da Água (PSA) no sistema de abastecimento. Este identifica boas práticas operacionais e medidas preventivas a implementar com base na identificação, análise e mitigação de riscos ¹⁷.

O laboratório possui grande credibilidade tanto a nível nacional como a nível europeu, o que pode ser comprovado pela carteira de clientes públicos e privados de renome, como a Direcção Geral de Saúde (DGS), Entidade Reguladora de Serviços de Água e Resíduos (ERSAR), as empresas do grupo AdP, entre outros ¹⁷.

1.1.3 Enquadramento Legal

Com o intuito de garantir a saúde pública a Organização Mundial da Saúde (OMS), em 1958, editou o documento para o controlo de qualidade da água de consumo humano (WHO Guidelines for Drinking-Water Quality). Actualmente já se encontra na 4ª edição. Foi dos primeiros documentos, relativos à saúde pública e ao ambiente, a ser publicado pela OMS ¹⁸.

A crescente preocupação dos cidadãos e organizações ambientais da União Europeia com a poluição aquática impulsionou a protecção da água a nível legislativo. A primeira legislação da União Europeia em relação à qualidade de água começou a ser discutida em 1975, com foco na água de rios e lagos para consumo humano. Em 1980 surgiu legislação referente ao controlo de qualidade das águas subterrâneas, banhar e marinha. Em Frankfurt, em 1988, foi revista a legislação e foram assinaladas as áreas a serem melhoradas, dando origem a uma 2ª vaga legislativa relativa à qualidade da água. Adoptaram-se a Directiva de Tratamento de Água Residual Urbana 91/271/CEE e a Directiva de Nitratos 91/676/CEE.

Em 1998, surgiu a Directiva da Água para Consumo Humano 98/83/CE, que estabelece uma estrutura de gestão da política europeia da água, limites de emissão, normas de qualidade e ainda prazos para ser implementada. Surgiu também a Directiva para a Poluição Integrada e Controlo de Prevenção 96/61/CE, estando agora em vigor a Directiva 2008/1/CE¹⁹.

De cinco em cinco anos a legislação relativa ao controlo de qualidade das águas é revista pela Comissão Europeia, sendo actualizada a lista de substâncias prioritárias²⁰.

São consideradas substâncias prioritárias os pesticidas, os hidrocarbonetos persistentes e os metais pesados, cuja presença é indicativa da qualidade de uma massa de água. As concentrações das substâncias prioritárias ou substâncias perigosas prioritárias não devem ultrapassar as definidas pelas normas de qualidade ambiental descritas no anexo IX e nº7 do artigo 16º do DQA e na Directiva 2008/105/CE ²¹.

O Regulamento REACH (Regulamento (CE) nº1907/2006) enumera as substâncias perigosas prioritárias descrevendo os riscos para a saúde humana, para o ambiente (bioacumulação, toxicidade e persistência) ²². Este documento entrou em vigor a 1 de Junho de 2007, estando actualmente em vigor o Regulamento (EU) 2016/1688. De cinco em cinco anos os Estados-Membros apresentam à Comissão Europeia um relatório sobre a aplicação deste regulamento ²².

Os países pertencentes à comunidade europeia devem adaptar as directivas para o seu quadro-legal.

Em Portugal, a entidade reguladora da qualidade de água é a Agência Portuguesa do Ambiente (APA), que sucedeu ao extinto Instituto da Água (INAG).

1.1.3.1 Água para Consumo Humano

A primeira Directiva da Comissão Europeia relativa ao controlo de qualidade de água para consumo humano foi a Directiva 98/83/CE. Esta estabeleceu o controlo de 48 parâmetros microbiológicos e químicos. Cada Estado-membro pode aumentar a lista de substâncias a serem monitorizadas ou considerar padrões de análise mais elevados, no entanto devem sempre obedecer às quantidades mínimas estipuladas na União Europeia. De três em três anos a qualidade de água para consumo humano tem de ser reportada à Comissão Europeia ²³.

No quadro legal nacional encontra-se em vigor o Decreto-Lei nº 152/2017 que altera o regime da qualidade da água para consumo no que concerne a: verificação das normas de qualidade da água, elaboração, submissão à autoridade competente (ERSAR) e implementação do programa de amostragem e análises a desenvolver, parâmetros, tratamento da água, divulgação de informação às autoridades competentes e aos consumidores, utilização de produtos e materiais em contacto com a água, realização de programas de controlo operacional de todos os sistemas de distribuição e critérios de aptidão dos laboratórios de ensaio ^{24,25}.

A ERSAR é a entidade responsável pela regulação da qualidade da água para consumo humano em Portugal, formulando várias recomendações quer às entidades gestoras do abastecimento de água quer aos laboratórios que efectuam o seu controlo ²⁴.

1.1.3.2 Águas Superficiais

As águas superficiais encontram-se divididas em três categorias: águas superficiais interiores, águas subterrâneas, águas costeiras e de transição ²¹. A poluição destas águas pode causar toxicidade para os organismos aquáticos, acumulação nos ecossistemas, perda de habitats e de biodiversidade e constituir uma ameaça à saúde humana²⁶.

A sua monitorização fornece informação para a implementação de medidas de prevenção, protecção e controlo de poluição, e permite a avaliação indirecta de outras matrizes, como a biota e os sedimentos. Desde 1976 a Comissão Europeia tem vindo a regulamentar a monitorização da água nos seus Estados-Membro, com o intuito de uniformizar as políticas aplicadas nesta área em cada um deles ²⁷.

A Directiva Quadro da Água (DQA), ou Directiva 2013/39/EU, transposta pelo Decreto-Lei nº42/2016, vulgarmente designado Lei da Água ²⁷, define Normas de Qualidade Ambiental (NQA) que estabelecem limites máximos de concentração de determinadas substâncias, sedimentos e biota. Podem ser expressas em valor médio anual (NQA-MA) ou em concentração máxima admissível (NQA-CMA).

No que concerne aos metais: cádmio, chumbo, mercúrio e níquel, as NQA estabelecidas referem-se à concentração em fase dissolvida de uma amostra de água filtrada através de um filtro de 0,45µm ou através de um método equivalente. Estes metais e respectivos compostos são considerados substâncias perigosas prioritárias ²⁸.

O Plano Nacional da Água (PNA) adopta as medidas estabelecidas pelo Directiva Quadro da Água e pela Lei da Água. Tem como objectivos o uso sustentável, equilibrado e equitativo de água de boa qualidade, a protecção do ambiente aquático (contra danos causados por emissões poluentes), restaurar o funcionamento dos sistemas naturais e combater a perda de biodiversidade, enquanto o fornecimento de água de qualidade às populações e actividades económicas é garantido. O Decreto-Lei nº76/2016 aprova a versão mais recente do PNA nos termos do nº4 do artigo 28º da Lei da Água e cria a Comissão Interministerial de Coordenação da Água ^{29,30}.

O Decreto-lei nº 218/2015 atribui à APA a responsabilidade da elaboração de inventariar as emissões, descargas e perdas de poluentes, a monitorização das águas superficiais, a avaliação da sua conformidade com as NQA, e a integração destas avaliações nos planos de gestão de região hidrográfica ²⁶.

1.2 Constituintes químicos: metais

Os metais são substâncias opacas, dúcteis, bons condutores de electricidade e calor, sólidos à temperatura ambiente, (à excepção do mercúrio), com um grande poder de reflexão que lhes confere um brilho característico.

Alguns metais, como o ouro, a prata, o cobre, o chumbo e o antimónio, são conhecidos e usados desde a Antiguidade. No final dos anos 3000 a.C., as ligas de cobre e estanho começaram a ser usadas, inaugurando a Idade do Bronze. Por volta de 2000 a.C., a China e a Índia já conheciam o mercúrio líquido, encarado com reverência e considerado mágico. No final do século I a.C. o ferro começou a ser utilizado, dando início à Idade do Ferro ³¹⁻³³.

À medida que a tecnologia evoluiu, a procura por metais e outros materiais aumentou, os séculos XVIII, XIX e XX registaram um grande número de descobertas ³⁴.

Actualmente, os metais são classificados consoante várias categorias, algumas das quais descritas na tabela 1.1:

Tabela 1.1 - Classificação dos metais ^{32,35}.

Categoria	Metais
Metais preciosos	Platina, ouro e prata
Metais pesados	Chumbo, cobre, estanho, ferro e zinco
Metais pesados raros	Antimónio, cádmio, crómio, níquel, manganês, cobalto, vanádio e tungsténio
Metais leves	Alumínio, bário, cálcio, berílio, magnésio e estrôncio

A abundância dos metais na crosta terrestre varia muito; alguns metais existem no estado puro, mas a maioria tem de ser obtida a partir de minérios ³². A tabela 1.2 apresenta a abundância para alguns dos metais.

Tabela 1.2 - Abundância de alguns elementos na crosta terrestre, oceano, plasma sanguíneo e tecidos ou células de mamíferos ³⁶.

Elemento	Crosta (ppm)	Oceano (μM)	Plasma sanguíneo (μM)	Célula/Tecido ^a (μM)
Ca	4×10^4	1×10^4	2×10^3	1×10^3
Cd	0.2	1×10^{-3}		
Co	25	2×10^{-5}	2.5×10^{-5}	
Cu	55	4×10^{-3}	8–24	~ 68
Fe	5×10^4	1×10^{-3}	22	0.001–10
K	3×10^4	1×10^4	4×10^3	1.5×10^5
Mg	2×10^4	5×10^4	500	9×10^3
Mn	950	5×10^{-4}	0.1	180
Mo	1.5	0.1		5×10^{-3}
Na	3×10^4	5×10^5	1×10^5	1×10^4
Ni	75	8×10^{-3}	0.04	2
V	135	0.03	0.07	0.5–30
W	1.5	5×10^{-3}		
Zn	70	0.01	17	180

^a Valores aproximados baseados na quantidade total.

O termo “metais vestigiais” data do início do século XX, com o reconhecimento de que muitos elementos existem em concentrações muito baixas, podendo ser detectados mas dificilmente quantificados ³⁷.

A especiação determina a sua importância ecotoxicológica, pelo que este estudo é de extrema importância ^{38,39}.

1.2.1 Especiação de metais

Denomina-se especiação à distribuição de um elemento por várias espécies químicas num sistema ¹⁸. Existem dois processos principais que controlam o nível de determinado metal num meio aquoso: complexação e precipitação. Estes processos e a respectiva especiação que deles advém é ditada pelas características físico-químicas de cada metal e do ambiente em que se encontra ⁴⁰.

Em meios aquáticos, a especiação de metais é muito complexa e fortemente dependente da composição da água ^{41,42}. É influenciada por factores como o pH, a condutividade e a composição e concentração da matéria orgânica dissolvida (DOM) ⁴³. Neste meio, os metais podem encontrar-se sob a forma de iões livres, de complexos e de colóides. Em aplicações práticas, geralmente são distinguidos entre metais totais e metais dissolvidos. No entanto, esta é uma definição ambígua, uma vez que a fracção de metais dissolvidos além de iões livres pode conter colóides ⁴⁴.

Os metais na forma de iões livres, ou de complexos fracos são considerados mais biodisponíveis e tóxicos do que metais em complexos fortes ou adsorvidos em colóides ^{45,46}. Por essa razão têm sido os mais estudados, tanto em relação à sua toxicidade quanto à sua importância biológica.

1.2.2 Importância biológica

Na ausência de metais a vida não seria possível ^{47,48}. A necessidade de metais é transversal aos cinco reinos dos seres vivos ⁴⁹⁻⁵¹. Alguns dos metais considerados essenciais por uma ou mais espécies são Fe, Br, Cu, Zn, Ni, Mn, Co, Cd, Mo, Se, Sn e V ^{52,53}. No caso do ser humano muitos dos elementos inorgânicos fazem parte da constituição de metaloproteínas (ex: ferritina, álcool desidrogenase e plastocianina), auxiliam em reacções de oxidação-redução, são necessários para o correcto enrolamento de proteínas e inibem enzimas ².

A acumulação de metais em organismos pode ocorrer via alimentação ou exposição a metais presentes no meio. O contacto ou ingestão de água promove a assimilação de metais.

A absorção de metais por organismos pode ser afectada pela sua prevalência em habitats, pelo estado de oxidação em que o elemento mais comumente se encontra, pela presença de elementos competidores, pela solubilidade, pela hidrólise ou pela quelação dos iões livres ³⁶. Apesar da abundância relativa de minerais inorgânicos na Terra, apenas os biodisponíveis se encontram ao alcance dos diferentes organismos³⁶.

No entanto, da mesma forma que a assimilação de metais não é facilitada, a sua acumulação excessiva também pode revelar-se tóxica. Além de realizarem a absorção de metais, os organismos armazenam os metais enquanto são abundantes para consumo posterior ³⁶. Assim, a monitorização de metais nas águas torna-se muito relevante.

1.2.3 Biodisponibilidade e toxicidade

*“Alle Dinge sind Gift, und nichts ist ohne Gift. Allein die Dosis macht, daß ein Ding kein Gift ist.”*¹

Philippus Theophrastus Paracelsus, in *Von der Besucht*, 1567

A biodisponibilidade pode ser definida como sendo a quantidade de um metal disponível para absorção por parte de um conjunto de seres vivos num determinado meio. Consoante o meio e o organismo, os metais podem ser absorvidos sob diferentes formas, no entanto, os iões metálicos livres são considerados biodisponíveis porque atravessam facilmente as membranas biológicas. As variações na especiação de metais vestigiais num sistema podem alterar a sua biodisponibilidade e consequente nível de toxicidade⁵⁴.

A toxicidade de um elemento depende do seu estado de oxidação, concentração e biodisponibilidade ³⁶. Quanto mais fácil for a absorção de um metal por parte de um organismo maior é

¹ “Tudo é veneno, e nada é veneno. A dose faz o veneno.”

a probabilidade desse se tornar tóxico. A toxicidade ocorre quando a elevada quantidade de um metal impede ou prejudica determinados processos metabólicos e funções vitais no organismo ⁵⁵. A sobreacumulação de metais pode levar a vários efeitos de toxicidade ^{33,36}. Na Fig.1.3 encontram-se malefícios provocados por alguns metais na saúde humana.

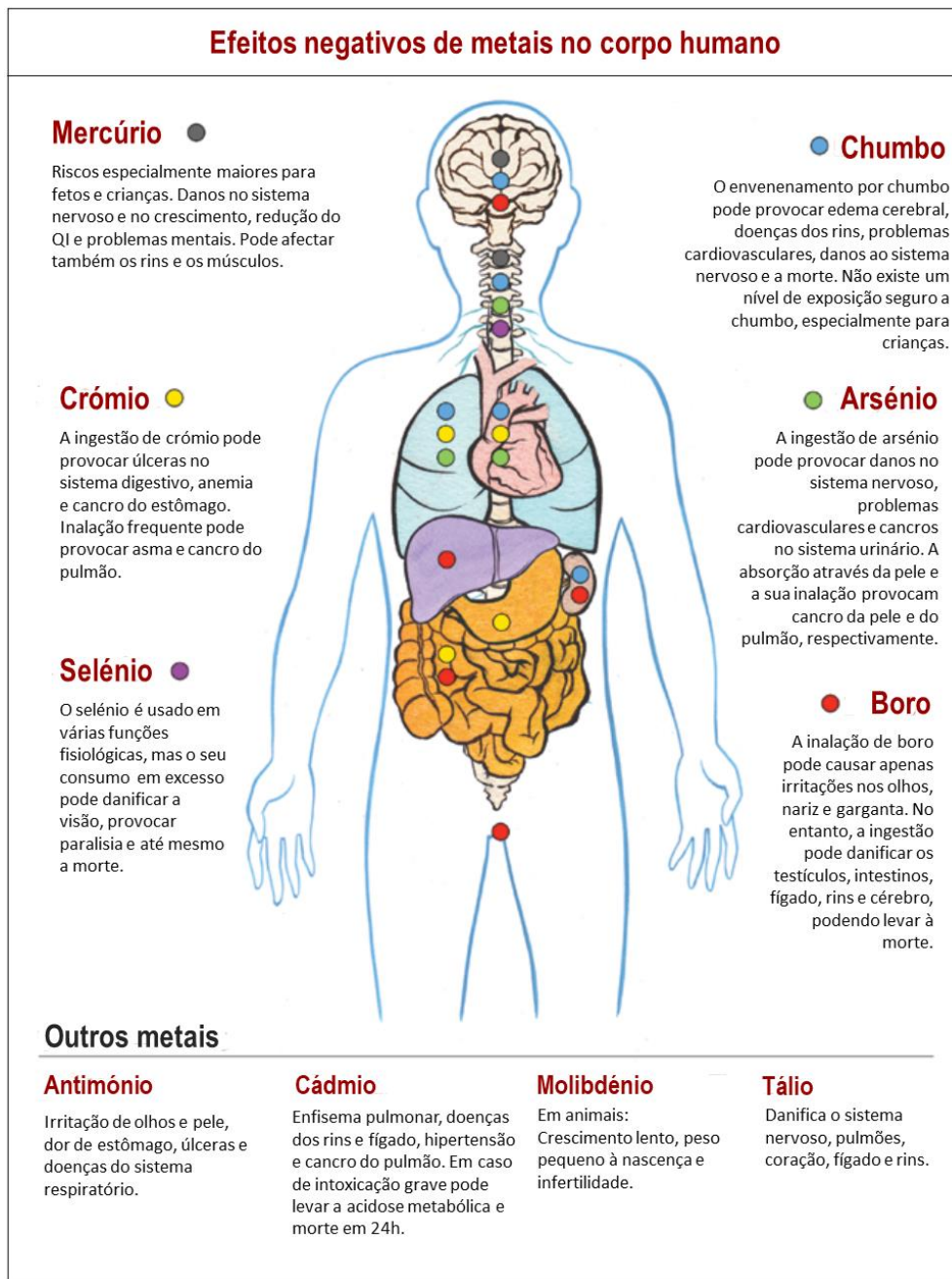


Figura 1.3 - Efeitos negativos de alguns metais no corpo humano⁵⁶.

1.3 Técnicas de Amostragem

A amostragem de água consiste no processo de obtenção de uma amostra, ou seja, a recolha de uma porção representativa do objecto de estudo ⁵⁷. É considerada uma etapa crítica do processo

analítico e necessita de especial cuidado para garantir que os resultados analíticos obtidos são verdadeiros.

As fontes de erro são abundantes nas etapas de colheita, de conservação e no transporte. Podem ocorrer contaminações, instabilidade, colheita ou preservação incorrectas e colheitas não homogêneas de volumes de água. Os erros de amostragem apenas podem ser corrigidos através da repetição da amostragem, pelo que a utilização de brancos ou amostras de controlo revela-se irrelevante. Actualmente, existem várias abordagens que visam a garantia da qualidade da amostragem, como por exemplo, o aumento da frequência da colheita ou a utilização de dispositivos de colheita automática^{57,58}. Devem ser formuladas estratégias de amostragem consoante a selecção do local de amostragem, o tamanho e quantidade das amostras, a frequência e método de colheita, entre outros factores determinados consoante os objectivos a atingir⁵⁷.

1.3.1 Amostragem Pontual

A amostragem pontual de água consiste na recolha de amostra num determinado local, recorrendo ao uso de frascos. Apesar da informação obtida ser limitada ao espaço e tempo de recolha, a amostragem deve ser realizada de forma a que a amostra seja representativa.



Figura 1.4 - Representação dos vários métodos de recolha de amostras pontuais⁵⁶.

Como ilustrado na figura 1.4, a amostragem pontual pode realizar-se através da imersão de um frasco na água numa zona de pouca profundidade ou na margem, ponte ou plataforma do meio aquático. As amostras de água de grandes rios, estuários e mar podem ser recolhidas usando frascos anexados a um tubo telescópico ou frascos específicos de amostragem em profundidade. Podem ainda ser utilizados métodos automáticos que permitem a recolha de amostras em diferentes intervalos de tempo^{57,58}.

A amostragem pontual é uma metodologia bem estruturada e validada, pelo que tem sido aceite para efeitos de aplicação legislativa da monitorização de águas. É a técnica mais comumente utilizada,

seguida de extracção e análise instrumental. No entanto, possui algumas limitações: podem ocorrer falhas na detecção de contaminação esporádica, dificuldades na extração e análise de volumes grandes de água e implica custos elevados operacionais.

A biomonitorização consiste na medição de substâncias tóxicas presentes em seres vivos e é uma das alternativas à amostragem pontual na monitorização de águas. No entanto, o facto de fazer uso de organismos vivos aumenta a incerteza associada a esse método ^{58,59}.

1.3.1.1 Tipos de Amostra

Existem dois tipos de amostras de água, a discreta e a composta. Em qualquer uma destas, as amostras recolhidas devem ser homogéneas, representativas e preservar as suas características físico-químicas ⁵⁹. O volume de amostra depende dos analitos-alvo, da composição da matriz, da homogeneidade do meio e do limite de quantificação do método analítico. A quantidade mínima de amostra é determinada pelas limitações do método analítico, no entanto, quanto maior for o volume de amostra maior serão os custos e inconveniências de transporte e armazenamento. Para determinações de metais pesados aproximadamente 100mL de amostra são suficientes ⁵⁸.

1.3.1.1.1 Amostras Discretas

Uma amostra discreta, ou amostra pontual, é colectada num curto intervalo de tempo (<15 min.), num único local, pelo que apenas permite determinar a composição da massa de água num determinado momento e num espaço limitado. Pode ser comparada a um instantâneo. No entanto, se forem colectadas amostras discretas em diferentes intervalos de tempo e locais da mesma matriz, torna-se possível documentar a variação composicional da matriz, tornando-as representativas ⁵⁸.

1.3.1.1.2 Amostras Compostas

Consistem no armazenamento de pequenas amostras no mesmo recipiente colectadas periodicamente. Representam a média das características da massa de água durante o tempo de recolha. Podem ser utilizadas na determinação da média da concentração de poluentes. Este tipo de amostras pode ser recolhido contínua ou descontinuamente ⁵⁸.

1.3.1.2 Preservação e Armazenamento de Amostras de Água

Idealmente, as amostras de água deveriam ser analisadas *in situ* o que, salvo algumas excepções, é impossível. O armazenamento da amostra até à sua análise torna-se indispensável, no entanto, durante este processo podem ocorrer várias alterações a nível químico, físico e biológico. Certos processos biológicos ou a adsorção dos metais às paredes do contentor, podem alterar a especiação destes durante o armazenamento ⁶⁰⁻⁶².

A preservação de amostras torna-se essencial para assegurar que não ocorrem modificações entre a colheita e a análise. Não existe um procedimento de estabilização universal para todos os compostos, a escolha do método deve ser ter em conta o tipo de analito ⁵⁸.

Tabela 1.3 - Métodos de preservação de amostras de água ⁵⁸.

Métodos Químicos	Métodos Físicos
Adição de:	• Refrigeração
• Ácido	• Armazenamento escuro
• Sulfito	• Uso de frascos de âmbar (ou outro tipo de frasco especial)
• Solvente	• Filtração
• Iões metálicos tóxicos	• Recolha da amostra sem <i>headspace</i>
• Azida	• Recolha da amostra sem alterar as condições redox
• Formaldeído	• Isolamento de químicos usando LLE, SPE ou SPME
• Outras substâncias	• Uso de coacervados

A preservação da amostra pode ser alcançada através de congelamento, pasteurização, ou do uso de conservantes químicos, como ácidos, hidróxido de sódio, clorofórmio, formaldeído, cloreto de mercúrio, entre outros métodos, alguns dos quais descritos na tabela 1.3 ⁵⁸.

1.3.2 Amostragem Passiva

A amostragem passiva consiste numa metodologia de recolha de analitos *in situ*. Esta técnica baseia-se na diferença de potenciais químicos para proporcionar uma transferência dos analitos desde o meio em estudo (água) até ao dispositivo de recolha (amostradores passivos). Surgindo como um complemento à amostragem pontual, tem vindo a ganhar uma crescente relevância nas últimas décadas.

A amostragem passiva permite a recolha de analitos durante um período de tempo, o seu funcionamento pode ser comparado à gravação de um filme, por oposição à recolha pontual de amostra que recolhe dados sobre um local num determinado momento, assemelhando-se a um instantâneo fotográfico ⁵⁸.

1.3.2.1 Amostradores Passivos

Os dispositivos de recolha utilizados em amostragem passiva designam-se amostradores passivos. Foram desenvolvidos em 1974 com o intuito de monitorizar compostos inorgânicos em águas superficiais ⁶³. A sua utilização é simples, de baixo custo e não necessita de uma fonte de energia para o seu funcionamento⁵⁸.

Actualmente, existem vários tipos de amostradores, consoante o modo de operação e tipo de analitos ou de matriz a serem estudados, as categorias de interesse encontram-se esquematizadas na figura 1.5. Teoricamente, podem ser utilizados em estudos de monitorização, *screening* da presença ou ausência de poluentes, especiação de contaminantes, medição de concentrações médias ponderadas e em amostragem biomimética. Porém, as principais utilizações de amostradores passivos têm-se focado na área dos minérios e poluição de águas ^{42,63–70}.

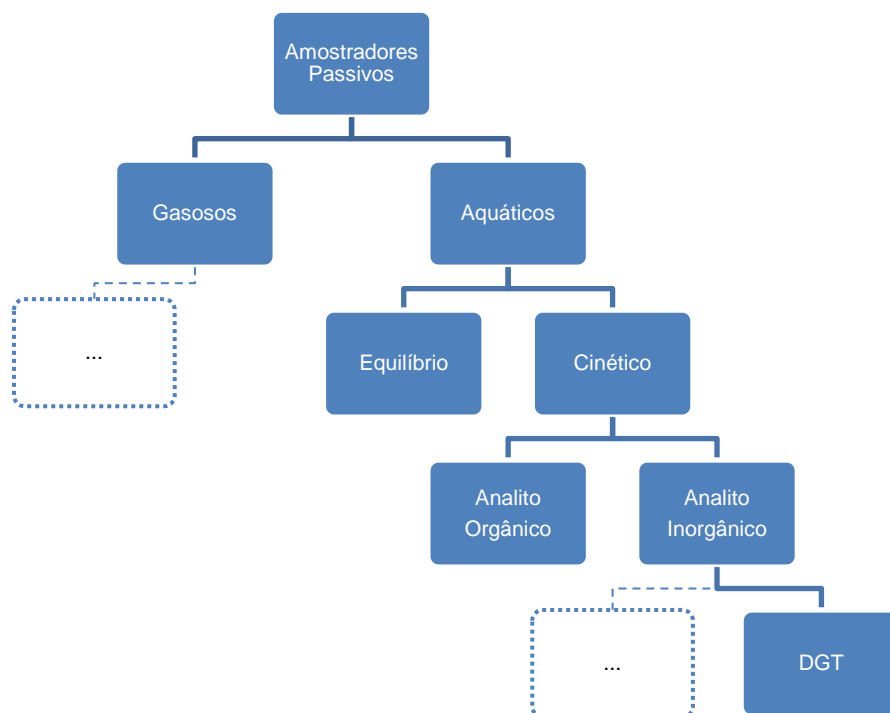


Figura 1.5 - Classificação de amostradores passivos ⁷⁰.

1.3.2.1.1 Princípio de funcionamento

Independentemente do tipo de amostrador passivo utilizado, o princípio de funcionamento é muito semelhante.

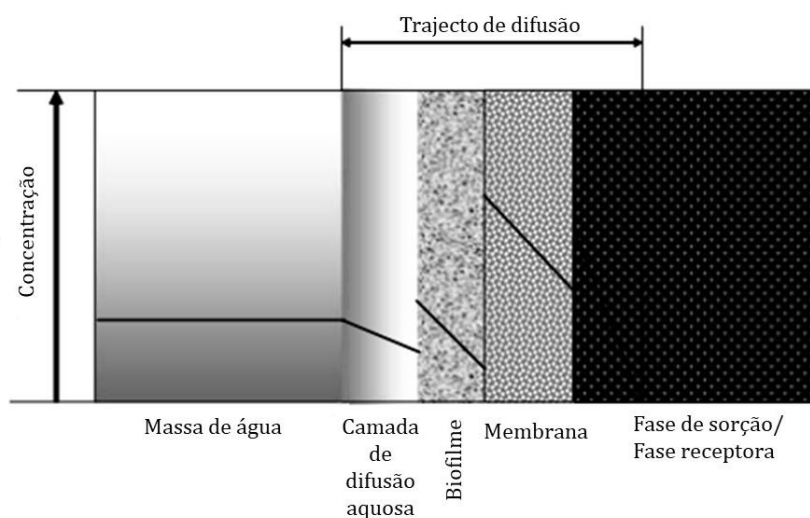


Figura 1.6 - Representação da concentração de analitos ao longo do trajecto de difusão, desde a água até à fase receptora do amostrador passivo⁵⁸.

Tal como a figura 1.6 ilustra, os analitos migram da massa de água em estudo, atravessando várias camadas de diferentes resistências, até atingirem a fase receptora. Pretende-se que apenas os analitos de interesse interajam com esta⁵⁸.

Esta transferência de massa é alcançada através da diferença de potencial químico do analito entre os dois meios, e ocorre, até que o equilíbrio seja atingido ou até que a amostragem seja interrompida

⁵⁸. Pretende-se que a massa do analito recolhida pelo amostrador, reflecta a concentração média no espaço de tempo em que o dispositivo esteve exposto, pelo que o amostrador deve ser retirado antes da saturação ser atingida ⁵⁸.

A camada de difusão encontra-se entre o meio a ser analisado e a camada de sorção. É utilizada com o intuito de controlar a taxa de transferência dos analitos para a camada de sorção, definir a selectividade do amostrador e evitar que analitos de determinado tamanho e espécie sejam aprisionados. A resistência à transferência de massa num amostrador é igual à soma das resistências individuais de camada de fronteira, do biofilme, da membrana e da camada de difusão, através das quais o analito difunde. A transferência de massa é directamente proporcional à área de exposição do amostrador, quanto maior esta for maior será a sensibilidade do dispositivo⁵⁸.

1.3.2.1.2 Modos de Operação

Como se pode observar na figura 1.7, em condições controladas, existe a possibilidade de dois regimes de operação, o cinético e o de equilíbrio uma vez que, ao longo do tempo existe uma tendência para ocorrer o equilíbrio entre o amostrador e o meio de estudo.

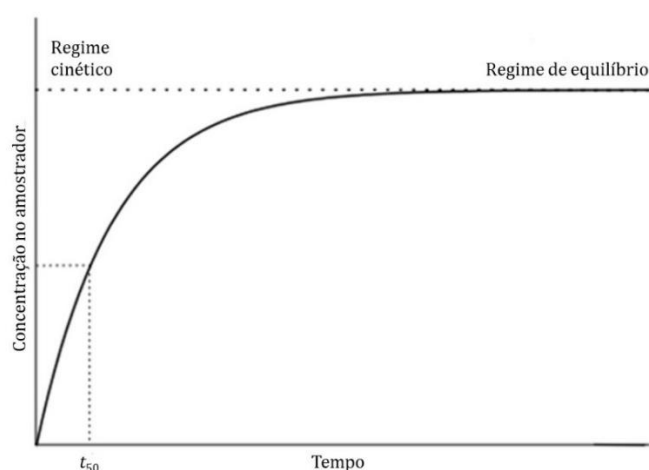


Figura 1.7 - Acumulação de analitos num amostrador passivo ao longo do tempo⁵⁸.

Em regime de equilíbrio, os amostradores passivos acumulam os iões metálicos durante um período de tempo suficiente para que a concentração do analito no amostrador esteja em equilíbrio com a da solução. A diálise de Donan é um exemplo deste modo de operação ^{58,70}.

Os amostradores passivos em regime cinético acumulam os analitos continuamente, sob um fluxo de massa destes ao longo do tempo de exposição. A quantidade de analitos acumulados reflecte a concentração no meio aquoso bem como a afinidade para os analitos. Permitem a medição de massas durante períodos de tempo e um eventual conhecimento de contaminantes não detectados nas amostras pontuais ^{58,70}.

1.3.2.1.3 Selecção de componentes

A utilização de amostradores passivos implica a aquisição de materiais e a sua montagem, ou a compra de amostradores passivos prontos a utilizar. Existem vários factores e parâmetros que devem ser considerados previamente à escolha dos materiais a utilizar.

Ao seleccionar o equipamento para a amostragem de água, uma das principais considerações a ter em conta, deverá ser o material que estará em contacto com a amostra. O material seleccionado não deverá libertar compostos interferentes com a determinação dos analitos nem reagir com estes. No caso de analitos inorgânicos não deverão ser utilizados materiais metálicos. O equipamento deve ser devidamente limpo previamente à amostragem e a limpeza deverá ser adaptada consoante os analitos-alvo ⁵⁸.

O uso de uma membrana polimérica ou de uma camada de gel como camada de difusão minimiza o impacto das flutuações da velocidade da água. No entanto, também reduz a taxa máxima de acumulação de analitos, o que diminui a sensibilidade da técnica, pelo que a espessura de mesma é relevante ⁵⁸.

A fase receptora pode ser líquida e acumular os analitos por absorção ou ser sólida e acumulá-los por adsorção. Nos amostradores passivos de metais, normalmente são utilizadas resinas quelantes como fase receptora, e, após adsorção, o elemento só pode ser libertado por acção de ácidos fortes ⁵⁸.

Consoante o tipo de amostrador passivo escolhido e o seu funcionamento, surgirão mais factores que condicionam a escolha do material a utilizar durante a montagem do mesmo.

1.3.2.2 *Diffusive Gradients in Thin-Film (DGT)*

Neste estudo, os amostradores passivos usados foram os *Diffusive Gradients in Thin-Film* (DGT). Esta técnica permite realizar, *in situ*, a medição quantitativa de espécies metálicas lábeis ⁷⁰⁻⁷³. A utilização de DGT é a mais comumente estudada e aplicada em matrizes de águas superficiais e análise de metais.

A origem deste tipo de amostradores remonta à geoquímica de sedimentos. A pesquisa sobre a diagénese levou ao uso de dispositivos *diffusive equilibrium in thin-films* (DET), e a necessidade de melhorar a sensibilidade destes para metais vestigiais em água do mar, despoletou a criação de DGT ⁷⁴. Actualmente, estes dispositivos são os mais utilizados na amostragem passiva de metais e na caracterização e especiação de metais em água ^{44,58}.

A técnica de DGT é selectiva, simples, possui uma capacidade multielementar e permite pré-concentrar os analitos, diminuindo o efeito de matriz, melhorando o limite de quantificação alcançado pelos métodos analíticos e a sua aplicação permite determinar a biodisponibilidade de metais ^{66,75}.

1.3.2.2.1 Princípio de funcionamento

O dispositivo DGT deve ser utilizado durante um período de tempo conhecido, num meio aquático ou numa solução laboratorial. O princípio adjacente a esta técnica é a difusão dos iões metálicos, desde o meio aquoso até à fase receptora, normalmente uma resina, que os acumula via adsorção.

Um DGT é constituído por um filtro membranar, uma camada de gel de difusão e uma camada de resina, sustidos por um invólucro de plástico com uma abertura circular, tal como pode ser observado na figura 1.8.

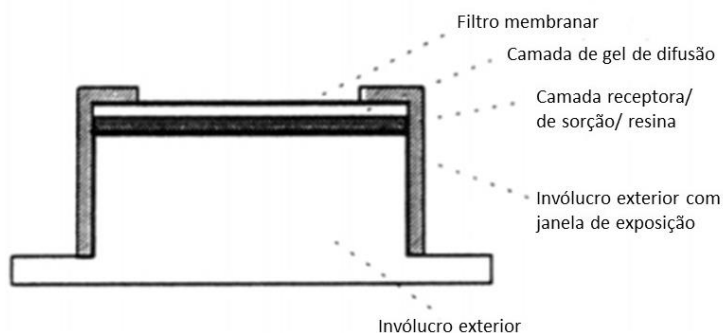


Figura 1.8 - Ilustração de um DGT ⁷².

Os filtros membranares são polímeros com uma rede de poros, geralmente de 0,45 μm , que conferem propriedades de exclusão molecular ao dispositivo ^{44,73}. O gel de difusão encontra-se separado da água, por uma camada de fronteira (DBL) e pelo filtro membranar. Os metais têm que difundir através da DBL e do gel, referenciados na Fig.1.9, para que possam adsorver na resina. Teoricamente, apenas a fracção de iões metálicos livres consegue adsorver na resina do dispositivo DGT, as formas complexadas dos metais não ⁷⁶.

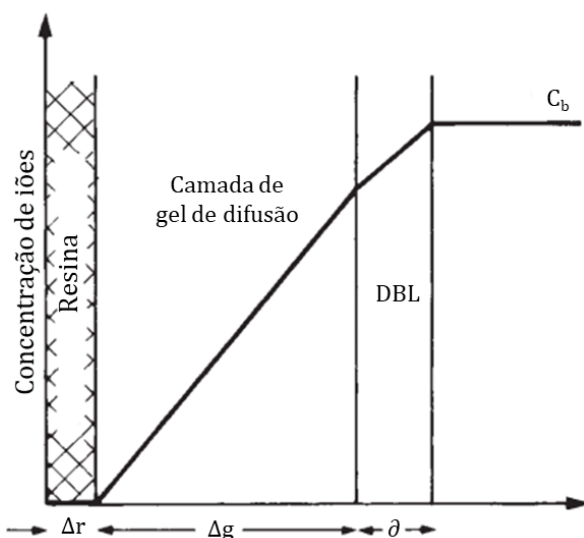


Figura 1.9 - Concentração de espécies iónicas na água (C_b), e ao longo dos componentes do amostrador passivo ⁷⁴.

Tal como ilustrado na figura 1.9, teoricamente, na camada da resina a concentração de iões metálicos deve ser nula, uma vez que estes deverão complexar por completo com a resina até que a saturação seja atingida ou a exposição interrompida. No entanto, mesmo em ambiente controlado existe sempre alguma competição para ligação à resina. Desde que a resina não sature, quanto maior for o tempo de exposição do DGT maior será a concentração de metais, pelo que a capacidade da camada de resina no dispositivo é um factor limitante à massa de iões metálicos acumulada ^{71,72,74,76}.

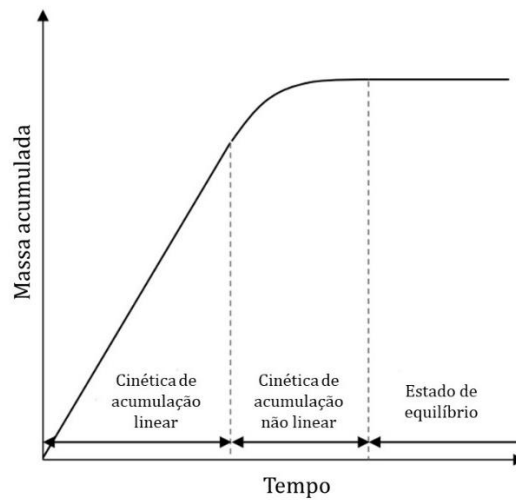


Figura 1.10 - Representação esquemática da cinética de acumulação durante a exposição de um amostrador passivo ⁷⁰.

O perfil de acumulação de analitos pela resina encontra-se representado na figura 1.10 e é caracterizado por uma fase linear e uma fase não-linear que ocorre quando o equilíbrio com a solução ou a saturação da resina são atingidos. A taxa de acumulação é dependente da velocidade de difusão do analito através das várias camadas do DGT, ou seja, do seu coeficiente de difusão ⁷⁰.

1.3.2.2.2 Cálculos e premissas

Os DGT permitem a medição directa da massa de analitos acumulada ⁴⁴. É necessária a aplicação de várias premissas e cálculos para obter a concentração de analitos na solução (água) original.

Após a exposição de DGT à água, os analitos são extraídos da camada receptora recorrendo à extracção com um ácido forte. Consoante a resina e o método de extracção usado, a eficiência varia, pelo que esta deve ser tida em conta durante o cálculo de massa.

Assim, conhecendo o volume de ácido utilizado na extracção ($V_{\text{ácido}}$) e a massa acumulada (M) de cada analito, calculada através da concentração no solvente de extracção (C_{se}), aplica-se a equação (1):

$$M = \frac{C_{se}(V_{gel} + V_{\text{ácido}})}{f_e} \quad (1)$$

Em que V_{gel} é o volume de gel na camada de difusão e f_e é a eficiência de extracção. Na prática, o volume de gel é negligenciável ⁷². Sabendo o tempo, t , e a área de exposição do dispositivo, A , o fluxo de iões metálicos através do DGT, F , pode ser calculado da seguinte forma:

$$F = \frac{M}{At} \quad (2)$$

Idealmente a espessura da DBL deve ser medida experimentalmente, no entanto essa é uma tarefa muito exigente e torna-se necessário aplicar algumas simplificações. Se assumirmos que a espessura

da DBL é muito menor do que a espessura do gel de difusão, podemos considera-la negligenciável e a Lei de Fick poderá ser aplicada ^{72,77} :

$$F = D \frac{dc}{dx} \quad (3)$$

Em que D é o coeficiente de difusão, c representa a concentração do soluto e x a distância. Devido à convecção existente na solução original (natural no caso de meios aquáticos e induzida no caso de soluções laboratoriais) assume-se que a concentração do analito nesta é constante. Consequentemente, o gradiente da equação (4) para DGT é simplesmente $C/\Delta g$, obtendo-se:

$$F = \frac{DC}{\Delta g} \quad (4)$$

Onde C é a concentração de analito na solução e Δg é a espessura do gel de difusão. Se for assumido que o tempo necessário para atingir o estado de equilíbrio é negligenciável, podemos obter uma equação de cálculo da concentração de analito na solução original, igualando a equação (3) à (4):

$$C = \frac{M\Delta g}{DA t} \quad (5)$$

Esta equação passou a ser conhecida como a equação DGT ⁴⁴. A sua utilização implica implicitamente o reconhecimento de várias premissas como verdadeiras:

1. A massa acumulada durante o período anterior ao estado de equilíbrio é negligenciável;
2. O transporte dos analitos dentro do DGT ocorre por difusão;
3. A massa acumulada, a espessura gel de difusão, o coeficiente de difusão do analito na camada de difusão, a área de exposição e o tempo são conhecidos;
4. Todas as interações que possam ocorrer no DGT, como efeitos de carga e ligações de analitos ao filtro membranar e à camada de difusão, são negligenciáveis;
5. O analito adsorve de imediato à resina, mantendo-se na sua superfície;
6. Os coeficientes de difusão no filtro membranar e na DBL são semelhantes aos do gel ⁷⁸.

A equação (5) é adequada para soluções com agitação e prevê que a massa acumula linearmente com o tempo. Permite estimar a concentração do analito na solução, caso seja desconhecida ou D se a solução tiver uma concentração conhecida de analito. No entanto, mesmo que todas as premissas sejam atingidas, não existe garantia de que a concentração calculada seja idêntica à concentração do analito na solução original, mesmo num sistema muito simples ⁴⁴.

Tal como foi anteriormente referido, na secção 1.2.1, os metais estão divididos em várias espécies, mas a técnica de DGT, ao contrário de outras, mede somente a fracção lábil de metais. A massa

acumulada, M , que consiste na soma de iões metálicos livres disponíveis na solução e resultantes da dissociação de complexos metálicos, deve representar apenas essa fracção de metais. Com base na equação (5), M pode ser calculada da seguinte forma ⁷⁶:

$$M = \frac{(C_M D_M + C_{ML} D_{ML}) At}{\Delta g} \quad (6)$$

Em que C_M é a concentração de iões metálicos livres, D_M é o coeficiente de difusão do ião metálico livre, C_{ML} é a concentração de metais dissociados de um complexo metálico e D_{ML} é o coeficiente de difusão do complexo metálico. No entanto, quando a espessura do gel de difusão é suficiente, os complexos metálicos podem ser considerados inertes e a medição por DGT é controlada somente pelo efeito de difusão, pelo que aplicamos a equação (7).

$$M = \frac{C_M D_M At}{\Delta g} \quad (7)$$

1.3.2.2.3 Selecção dos componentes

Existem dois componentes essenciais ao funcionamento do DGT, a camada de gel de difusão e a camada receptora, também conhecida por resina. Consoante a escolha da resina e gel de difusão, a selectividade do DGT varia e a relação entre massa acumulada e tempo difere ^{66,79}.

Existem vários materiais que têm sido descritos como camada receptora de DGT. A escolha deve ser feita tendo em conta a matriz em que será utilizada, a força de ligação com o analito, a capacidade da resina e a presença de efeitos de competição⁴⁴. No caso dos DGT-As a principal detecção é de arsénio, havendo também a possibilidade de medição de V, Mo, Se e Sb ^{80,81}; os metais são acumulados por adsorção a uma camada de hidróxido de ferro (FeOOH) ⁸². No entanto, para a medição da maior parte dos metais a resina mais utilizada tem sido a Chelex-100.

A resina Chelex-100 é constituída por copolímeros de estireno divinilbenzeno com iões de iminodiacetato que actuam como grupos quelantes de iões metálicos polivalentes. Pode ser utilizada a $\text{pH} \geq 4$, ou seja, ligeiramente ácido, neutro ou básico. Na figura 1.11 estão representadas as formas zwitteriónicas da resina Chelex em função do pH ⁸³.

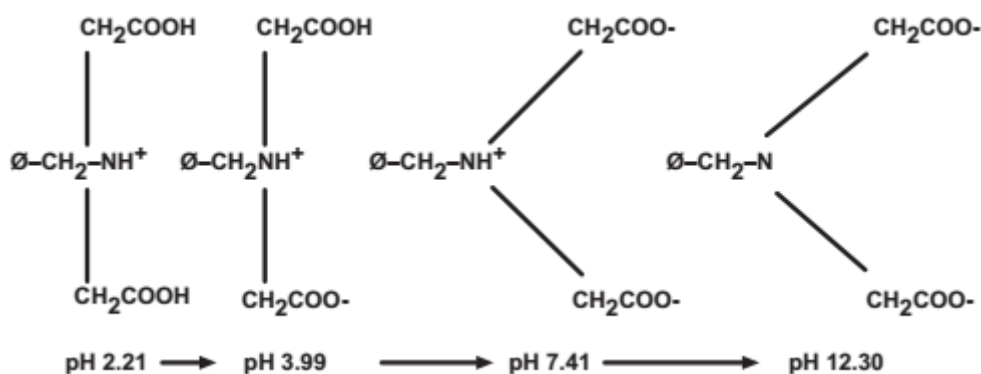


Figura 1.11 - Estrutura da resina Chelex-100 em função do pH ⁸³.

Quando a resina Chelex-100 se encontra carregada negativamente, é uma boa escolha para a amostragem de metais de transição devido à sua selectividade na ligação destes, proporcionada pelos grupos de ácido iminodiacético ^{78,83}. Liga-se fortemente, via quelatação, a metais vestigiais em detrimento de iões maioritários (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ e K^+) ^{44,74,83}. A ordem aproximada de selectividade da resina Chelex -100 para catiões numa solução de ácido nítrico ou clorídrico (pH 4 – 6) é:



A capacidade da resina é 0,4 meq/mL e o nível de saturação da mesma depende da quantidade de resina utilizada na construção do DGT ^{72,83}.

A camada de difusão normalmente é composta por um hidrogel, o qual consiste numa rede de polímeros que apesar de serem altamente hidrofílicos também são insolúveis, os seus grupos polares permitem a absorção de água e inchamento, mas o gel não se dissolve em contacto com água. A sua consistência varia desde fluído viscoso a sólido compacto ^{44,84}. O transporte de massa através do hidrogel é totalmente dependente de difusão, ao ser utilizado um hidrogel de espessura conhecida, consegue controlar-se a taxa de transporte de massa. ⁸⁵.

Têm sido utilizados três tipos de géis: agarose, poliacrilamida reticulada com um derivado de agarose (APA) e poliacrilamida reticulada com bis-acrilamida (RES). O hidrogel mais utilizado, APA, é derivado da poliacrilamida com a fórmula química $(\text{C}_3\text{H}_5\text{NO})_n$, cuja estrutura se encontra representada na figura 1.12. Este tipo de gel incha em contacto com água; quanto maior for a turgescência, maior é a proporção de água que contribui para a difusão livre dos solutos ⁷⁷. Para valores de força iónica $\geq 1\text{mM}$ não ocorrem ligações mensuráveis de metais vestigiais ao gel APA ⁸⁶. Contudo, este hidrogel apresenta locais específicos de ligação para Cu^{2+} e Pb^{2+} . Se estes catiões estiverem presentes na solução, podem ficar retidos na camada de difusão, em detrimento de outros metais como Co^{2+} , Ni^{2+} , Cd^{2+} e Mn^{2+} ⁴⁴.

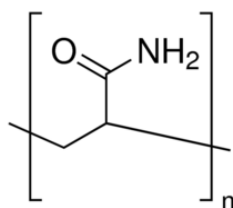


Figura 1.12 - Estrutura molecular de poliacrilamida ⁸⁷.

O filtro membranar é de polietersulfona com poros de 0,45 μm . Este normalmente é preterido para aplicações *in situ*, uma vez que é mais resistente aos biofilmes⁴⁴.

O invólucro que envolve o filtro membranar, o hidrogel de poliacrilamida e a resina Chelex-100 é composto pelo plástico acrilonitrilo butadieno estireno (ABS) ⁴⁴.

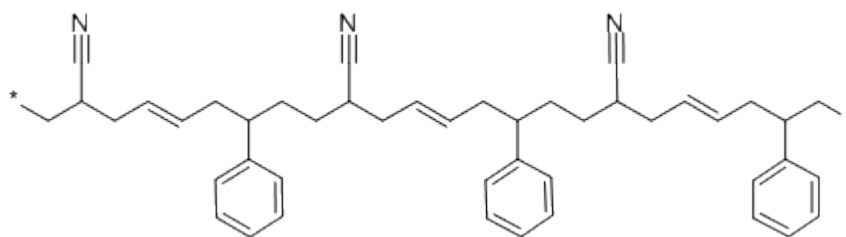


Figura 1.13 - Estrutura do polímero de ABS ⁸⁸.

As propriedades de ligação dos géis e membranas utilizados em DGT têm sido testados para uma pequena gama de analitos e condições apesar da ligação depender do pH, concentração de analito e força iónica.

Após o acondicionamento dos componentes no DGT, estes são robustos, mas de fácil contaminação, especialmente a resina Chelex-100 que facilmente retém quaisquer metais vestigiais com os quais entre em contacto ⁴⁴. Em armazenamentos superiores a uma semana, os DGT devem ser refrigerados a 4°C, de forma a minimizar o crescimento de microorganismos e a perda de humidade⁴⁴.

1.3.2.2.4 Factores que influenciam as medições por DGT

Certos parâmetros físico-químicos são essenciais para o bom funcionamento dos DGT. Nomeadamente a temperatura, a força iónica, o pH, o fluxo de água e o tempo de exposição.

Temperatura

Independentemente do analito e do meio, os coeficientes de difusão são estritamente dependentes da temperatura. Por cada grau de aumento de temperatura o coeficiente de difusão aumenta, aproximadamente, 3%, pelo que a temperatura à qual a medição é feita deve ser conhecida ⁴⁴.

Em estudos laboratoriais, a correcção da temperatura faz-se através do uso do valor de coeficiente de difusão específico para a temperatura a que a experiência decorreu. No entanto, em estudos *in situ*, a temperatura pode variar substancialmente, se não flutuar acima de 5°C a utilização da temperatura média nos cálculos, pode considerar-se aceitável ⁴⁴.

Força iónica

A força iónica é determinada através da condutividade eléctrica da solução ou da concentração total de determinados iões inorgânicos dissolvidos (Na^+ , Cl^- , Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , CO_3^{2-} e SO_4^{2-}) ⁸⁹. Em geral, o uso de DGT é independente da força iónica, excepto se esta for menor que 0,2 mM segundo ^{72,90} ou 1mM segundo ⁷⁹. Neste caso, a precisão e exactidão da técnica ficam comprometidas ^{77,90–93}.

pH

As limitações do DGT relativamente ao pH estão associadas ao gel de difusão e resina utilizados. A resina Chelex-100 deve ser utilizada a $\text{pH} \geq 4$, abaixo desse valor o ácido iminodiacético fica protonado e deixa de ter afinidade para com metais. No entanto, para valores de pH entre 5 e 8,3 o funcionamento deste tipo de DGT é teoricamente independente do pH ⁷². Ao realizar experiências em

laboratório com DGT deve existir um compromisso entre esses valores e os valores óptimos para a utilização dos metais (pH<6), uma vez que a maior parte dos metais é estável em meio ácido.

Fluxo

O DGT deve encontrar-se exposto ao fluxo da solução⁴⁴. Desde que a espessura do gel de difusão seja suficiente, aproximadamente 1mm, a difusão dos iões metálicos no gel será independente da hidrodinâmica da solução, acima de um valor mínimo de convecção de 2 cm.s⁻¹. Pelo que quando as medições são efectuadas em meios de convecção forte (ex: rios, albufeiras) devem ser independentes do seu fluxo ⁷². Em medições laboratoriais, a solução deverá ser agitada, de forma a garantir o fluxo mínimo de 2 cm.s⁻¹.

Espessura da camada DBL

Em fluxos grandes de água, a espessura da camada DBL está entre 10-100 µm ⁷². Apesar de existirem vários modelos matemáticos, que permitem calcular a espessura da camada DBL consoante o fluxo do meio aquático onde o DGT é largado, seria necessário ter em conta várias premissas para os colocar em prática. Como a contribuição da camada de DBL é pequena comparada com as variações de fluxo e o método de montagem do DGT ⁴⁴, à semelhança de outros ^{71,74,82} decidi que a sua influência é negligenciável para o cálculo da concentração de analitos.

Coeficientes de difusão

O processo de difusão de metais em meio aquoso está dependente de 3 factores: tamanho do metal, viscosidade do meio e temperatura, como se pode observar na equação de Stokes-Einstein (8) ⁹⁴. Por este motivo, os coeficientes de difusão variam consoante o metal, o seu estado de oxidação⁴⁴ e a temperatura a que ocorre a captação por DGT.

$$D = \frac{K_B T}{6\pi\eta r} \quad (8)$$

Nesta equação, K_B é a constante de Boltzmann, T é a temperatura, η é a viscosidade do meio e r é o raio dos metais em difusão.

No caso do meio de difusão dos DGT, os coeficientes de difusão apresentam valores diferentes para cada camada atravessada pelos analitos. Teoricamente, deveria considerar-se o somatório de todos esses valores no cálculo de concentração do analito segundo a equação (9).

$$C = \frac{M}{At} \left(\frac{\delta^g}{D^g} + \frac{\delta^f}{D^f} + \frac{\delta^{dbl}}{D^w} \right) \quad (9)$$

Em que D^g é o coeficiente de difusão na camada de hidrogel de espessura δ^g , D^f é o coeficiente de difusão no filtro membranar de espessura δ^f e D^w é o coeficiente de difusão em água correspondente à espessura da camada DBL δ^{dbl} .

Todavia, tem sido adoptada uma abordagem mais simplista. A combinação mais comum de camada de difusão consiste no uso de um gel de poliacrilamida, reticulado com um derivado de agarose, e um

filtro membranar de polietersulfona com poros de 0,45 µm. Neste caso, os coeficientes de difusão para cada camada são praticamente indistinguíveis, permitindo o uso de um único valor de coeficiente de difusão, como anteriormente considerado na equação (6) ⁴⁴.

O valor dos coeficientes de difusão em água já foi largamente estudado para a maioria dos metais, existindo várias compilações dos mesmos na literatura ^{95,96}. Têm sido obtidos através da utilização em condições laboratoriais controladas⁷⁹ ou pela utilização de células de difusão^{77,97}.

Biofilmes

O aparecimento de biofilmes no filtro membranar pode afectar a medição do DGT, no entanto, é mais provável ocorrer devido a interações com os analitos do que ao aumento de camada de difusão ⁴⁴. O seu impacto é difícil de prever e de quantificar, está associado a medições de longa duração e a matrizes ricas em nutrientes ^{98,99}.

Tempo de exposição

Os dispositivos devem ser expostos, no mínimo, durante vários dias ao meio em estudo. O tempo de exposição determina o limite de detecção da técnica ⁴⁴.

1.4 Análise de metais

1.4.1 ICP-OES

A técnica de emissão óptica com plasma indutivo acoplado (ICP-OES), também conhecida por emissão atómica com plasma indutivo acoplado (ICP-AES), tem como princípio a medição da radiação electromagnética emitida pelos átomos ou iões dos analitos recorrendo à espectrometria de emissão óptica¹⁰⁰.

Quando a injeção de amostra é efectuada por um nebulizador concêntrico para uma câmara de nebulização ciclónica, as gotículas da amostra são separadas por força centrífuga de acordo com o seu tamanho e é criado um vortex através do fluxo do aerosol e do gás nebulizador ^{100,101}. O plasma, posicionado verticalmente, é usado com o intuito de gerar fotões, de comprimento de onda específico de acordo com as características do elemento correspondente, através da excitação de electrões da amostra ¹⁰².

Um sistema óptico separa as linhas de emissão de cada analito e a intensidade de cada uma delas é medida por um detector de estado sólido de *charge injection device*. Este permite a detecção de linhas no espectro de 165 a 1000 nm completa e continuamente ¹⁰⁰.

1.4.2 ICP-MS

A técnica de espectrometria de massa por plasma indutivo acoplado (ICP-MS) proporciona a análise multielementar que já existia na emissão óptica com plasma indutivo acoplado (ICP-OES), combinando-a com os óptimos limites de detecção que a espectrometria de massa permite atingir. É uma técnica que existe desde 1983, apesar da sua eficiência não é tão utilizada quanto outras técnicas de análise de metais vestigiais, devido ao seu custo elevado.

O ICP-MS não pode ser utilizado para especiação de metais, as diferentes espécies devem ser separadas antes de serem introduzidas no plasma³⁷.

1.4.2.1 Características e componentes

Um ICP-MS é composto por um espectrómetro de massa com um plasma indutivo acoplado constituídos por: um sistema de lentes, um analisador, um detector, um sistema de introdução de amostra, uma fonte de plasma e uma região de interface ^{102,103}. Os quais se encontram esquematicamente representados na figura 1.14.

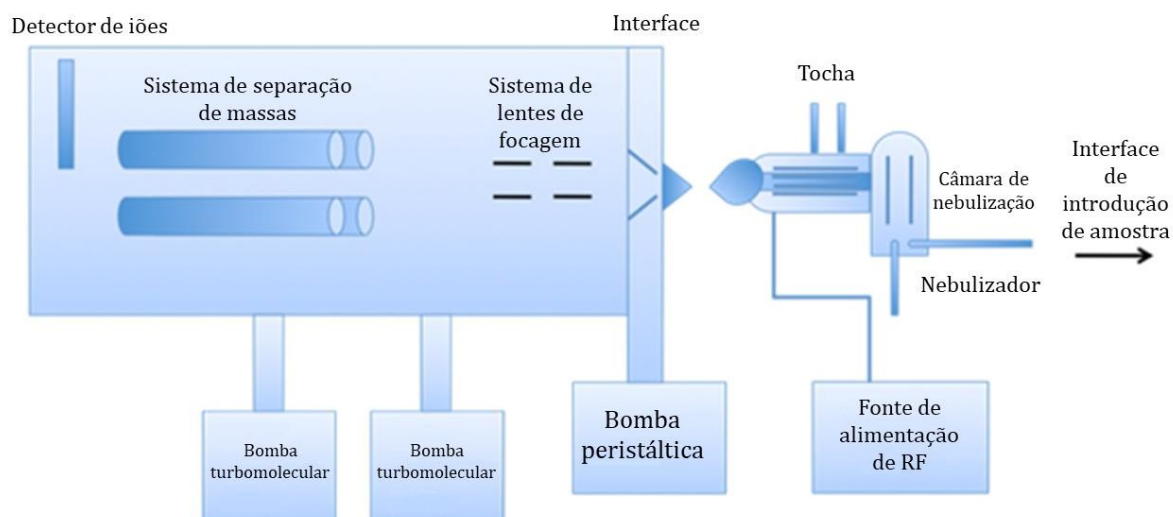


Figura 1.14 - Esquema dos constituintes do ICP-MS¹⁰¹.

Esta técnica é caracterizada por limites de detecção na ordem dos picogramas, uma ampla gama dinâmica linear, capacidade de análise multielementar e taxa de transferência da amostra elevada. Possui uma capacidade de detecção de três a quatro graus de magnitude superior ao ICP-OES¹⁰¹.

1.4.2.2 Introdução de amostras

O sistema de introdução de amostra é constituído pelo amostrador automático, pela bomba peristáltica, pelo nebulizador e pela câmara de nebulização. Tradicionalmente usado para a análise de soluções aquosas, existem várias formas de introdução de amostras líquidas num ICP-MS, mas em todas ocorre a formação de um aerossol.

O sistema de introdução de amostra deve garantir que a massa média por gotícula de aerossol é o mais baixa e constante possível, não ocorram efeitos de matriz, o tempo de estabilização do aerossol é mínimo, as partes do sistema em contacto com a amostra ou com o aerossol não estejam corroídas, degradadas ou contaminadas e que o efeito memória seja minimizado.

A amostra é colocada no amostrador automático e é bombeada por uma bomba peristáltica a aproximadamente 1mL/min. para o nebulizador, onde é convertida a um aerossol fino pela acção pneumática do fluxo de gás nebulizador. As gotículas pequenas do aerossol são separadas das restantes na câmara de nebulização e transportadas para a tocha, onde ocorre a sua dissociação, atomização e ionização. As maiores gotículas do aerossol (~10µm de diâmetro) são eliminadas na

câmara de nebulização por acção da gravidade e saem através de um tubo de drenagem que se encontra ligado à bomba peristáltica. Esta remoção de líquido permite manter a pressão, evitando variações de sinal ^{37,101-103}.

A câmara de nebulização deve estar arrefecida entre 2 a 5°C pelo fluido de refrigeração, com o intuito de condensar a água vaporizada no processo de nebulização e, assim, diminuir o contacto desta com o plasma, reduzindo a formação de óxidos ^{101,103,104}

1.4.2.3 Formação do plasma

O sistema de formação do plasma possui dois componentes, a tocha e a bobina electromagnética, geradora de radiofrequências, na figura 1.15 encontra-se uma representação esquemática do mesmo.

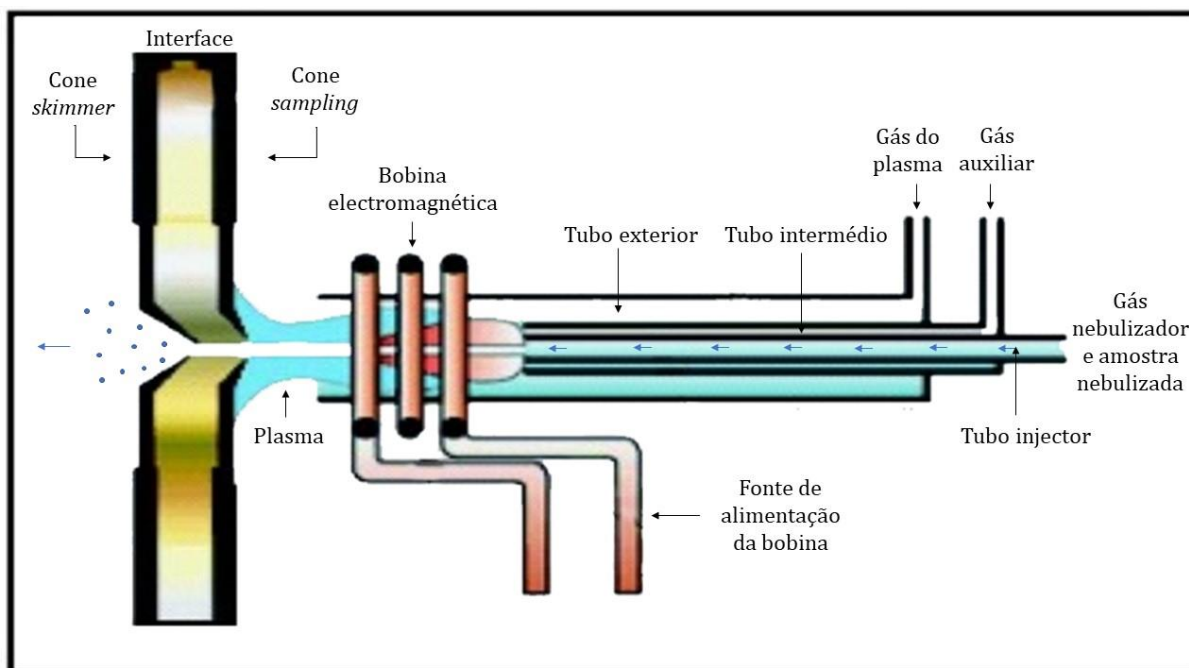


Figura 1.15 - Representação esquemática do sistema de formação do plasma em ICP-MS ¹⁰¹.

A tocha é composta por três tubos concêntricos de quartzo, o tubo exterior, o tubo intermédio e o tubo injector, através dos quais fluem três gases com funções distintas. Geralmente é utilizado o gás do mesmo elemento para os três fluxos, no entanto existem alguns benefícios analíticos de usar uma mistura de gases¹⁰¹.

O gás utilizado para formação do plasma circula dentro do tubo exterior a um fluxo de 12-17 L/min. O gás auxiliar passa no tubo intermédio a ~1L/min., tem como funções a redução de temperatura do tubo injector e o aumento da separação entre a tocha e o plasma. Por último, o gás nebulizador transporta a amostra em forma de aerossol a um fluxo de ~1L/min.

O gás de eleição para este processo é o árgon, devido à sua resistência eléctrica para dissipação de energia, condutividade térmica adequada para transmitir calor da região exterior do plasma para a interior, alta temperatura em estado gasoso (4.500-8.000K), alta densidade electrónica ($1,3 \times 10^{15} \text{ e}^-/\text{cm}^3$), robustez do plasma e custo aceitável ¹⁰⁴⁻¹⁰⁶. A alta energia disponível no plasma de árgon (~15,8

eV) permite ionizar a maior parte dos elementos da tabela periódica, uma vez que a maioria possui energias de primeira ionização de 4 a 12 eV¹⁰².

A bobina electromagnética produz uma radiofrequência (27 ou 40 MHz.) que promove a criação de um campo electromagnético intenso no “topo” da tocha. Enquanto o gás que formará o plasma flui através da tocha, aplica-se uma faísca de alta voltagem, o que causa alguns electrões a dissociarem-se dos átomos de árgon. Estes são acelerados pelo campo magnético colidindo com outros átomos de árgon, numa reacção em cadeia que provoca a ionização do gás, formando um plasma de altas temperaturas (6.000 a 10.000K). O plasma é mantido pela contínua transferência de energia por parte da bobina.

O processo de formação do plasma é idêntico no ICP-MS e no ICP-OES até este ponto. No ICP-MS a tocha está posicionada horizontalmente e centrada na bobina electromagnética. Esta é ligeiramente diferente da utilizada na técnica de ICP-OES. No caso do ICP-MS, a bobina deve ter uma ligação à terra para garantir que a região de interface tenha um potencial o mais perto possível de zero. Desta forma, evita que ocorra uma segunda descarga eléctrica, devido ao acoplamento electrostático entre a bobina e o plasma, que poderia aumentar a formação de espécies interferentes e afectar a energia cinética dos iões que entram no espectrómetro de massa.

O aerossol previamente gerado na câmara de nebulização sai do tubo injector com grande velocidade, atravessando o centro da descarga do plasma. De seguida, atravessa várias zonas de aquecimento, ilustradas na figura 1.16, onde sofre algumas alterações físicas. Na zona de pré-aquecimento sofre desolvatação e vaporização, na zona de radiação ocorre a atomização e, finalmente, na zona analítica a ionização através da colisão com os electrões do gás. Os iões da amostra são depois dirigidos em feixe para a região de interface.

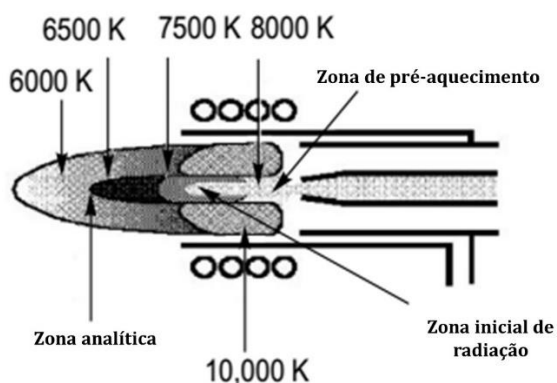


Figura 1.16 - Zonas de diferentes temperaturas do plasma no ICP-MS¹⁰¹.

1.4.2.4 Região de interface e sistema de lentes

Os catiões formados na tocha devem ser transportados de forma eficiente e mantendo a sua integridade eléctrica, desde o plasma, que se encontra à pressão atmosférica (760 Torr), até à região analítica do espectrómetro de massa, em vácuo (10^{-6} Torr).

A região de interface contém dois cones, geralmente de níquel, o *sampler* e o *skimmer* e o vácuo é mantido com o auxílio de uma bomba turbomolecular. Quando é adicionado oxigénio ao gás nebulizador através da leitura de amostra orgânicas, é preferível utilizar cones de platina, uma vez que são mais resistentes. Cada um dos cones possui um pequeno orifício que permite a passagem dos cations para um sistema de lentes electrostáticas. A região de interface é arrefecida por água e constituída por um material que dissipa o calor facilmente, como o cobre ou o alumínio¹⁰¹.

Quando os iões são formados no plasma, possuem energias cinéticas diferentes consoante a sua razão massa/carga (m/z). Como se pode observar na figura 1.17, ao atravessar o cone *sampler* para o cone *skimmer*, o feixe de electrões expande, mas mantém a sua composição e integridade se o plasma for neutro, pois o comprimento de Debye (distância a que a carga dos iões exerce influência entre eles) é menor do que o diâmetro dos orifícios dos cones¹⁰¹.

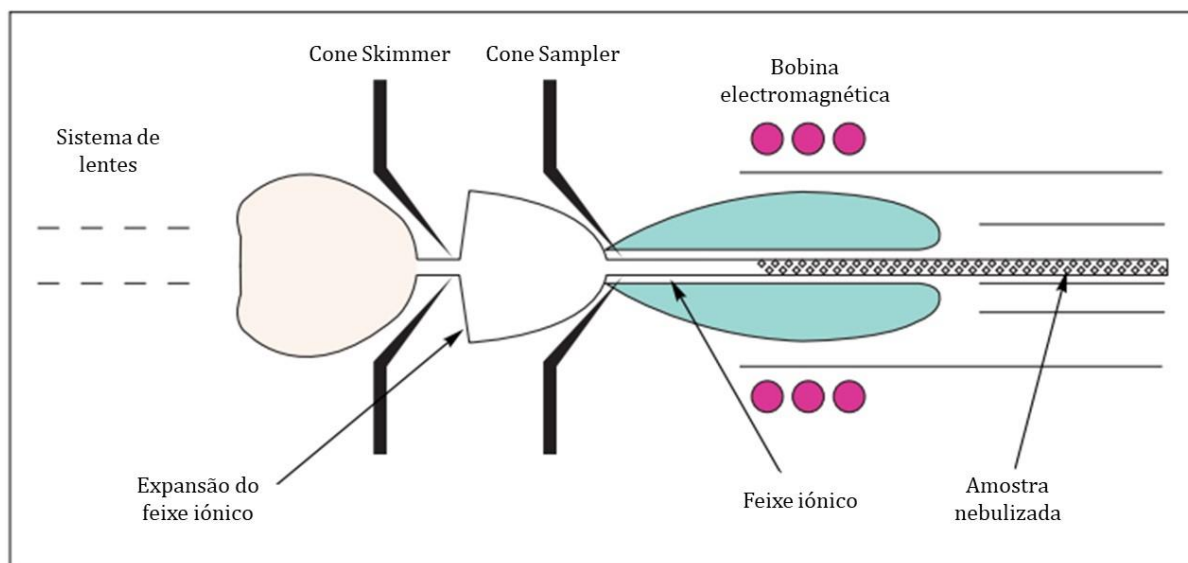


Figura 1.17 - Representação esquemática de uma secção transversal da região de interface e do topo da tocha¹⁰¹.

O espectrómetro de massa é constituído por um sistema de lentes electrónico, um separador de massas e um detector. O sistema de lentes é responsável pela focagem do feixe iónico, conduzindo-o a um dispositivo de separação de massa, enquanto evita que fotões, espécies neutras e partículas atinjam o detector. Estas espécies causam instabilidade do sinal, contribuem para o aumento de ruído de sinal e podem aumentar a necessidade de limpeza e manutenção do aparelho.

Existe uma tendência natural para os cations se repelirem uns aos outros, se esta não fosse corrigida, os cations de maior m/z forçariam os cations de menor m/z para o exterior do feixe, o que diminuiria significativamente a sua detecção. Assim, o sistema de lentes compensa este efeito recolocando electrostaticamente os cations no centro de feixe através da aplicação de uma diferença de potencial nas lentes^{103,104}.

1.4.2.5 Análise de massas

Há vários tipos de dispositivos de separação de massa, o ICP-MS utilizado neste trabalho possui um quadrupolo. Este tipo de dispositivo consiste em quatro hastes de metal cilíndricas, paralelas, de aço inoxidável ou molibdénio, um par com um determinado potencial de radiofrequência (RF) e o outro com uma corrente contínua (CC). O quadrupolo actua como um filtro de massas de iões, apenas

aqueles que possuírem um valor de m/z dentro de uma certa gama poderão atravessar o quadrupolo em direcção ao detector. Os restantes, com valores inferiores ou superiores, ficam com a trajetória alterada e atingem as hastes, sendo neutralizados. Durante uma análise multielementar este processo repete-se sucessivamente para cada analito com o respectivo ajuste de RF/CC consoante a m/z que se deseja separar.

A resolução do quadrupolo é caracterizada pela largura do pico a 10% do mesmo. Outra característica de qualidade relevante é a sensibilidade da abundância, que consiste na influência dos sinais $M+1$ e $M-1$ em relação ao sinal M . A sensibilidade da abundância de iões nos quadrupolos piora para massas baixas, porque a estabilidade destas é menor do que a das massas altas ^{101,104,107}.

1.4.2.6 Detector

O sistema de detecção consiste num eléctrodo (dínodo de conversão), num multiplicador de electrões e num pré-amplificador. Os iões são colocados sob a influência de uma voltagem negativa, colidindo com o primeiro dínodo e libertando electrões. Estes, por sua vez, colidem com os dínodos do multiplicador duplicando sucessivamente a sua quantidade. Por fim, obtém-se um pulso de electrões, que corresponde a aproximadamente 10^8 electrões por cada ião. Este é processado e convertido em contagens de sinal eléctrico ou concentração por um software próprio, usando padrões de calibração como referência para a sua quantificação. Deve ter-se em conta o sinal de ruído, normalmente causado por fótons que atingem o detector apesar das medidas tomadas.

No entanto, existem dois factores limitantes deste sistema analítico, a intensidade do fluxo de corrente que o detector pode sustentar e o seu “tempo morto”, ou seja, o tempo mínimo entre sinais em que o detector consegue registar o pulso. Estes factores são a causa da limitação da capacidade do sistema, que se encontra entre 2×10^6 a 4×10^6 contagens por segundo. Deve ser efectuada uma correcção matemática de forma a corrigir a não-linearidade causada por estes.

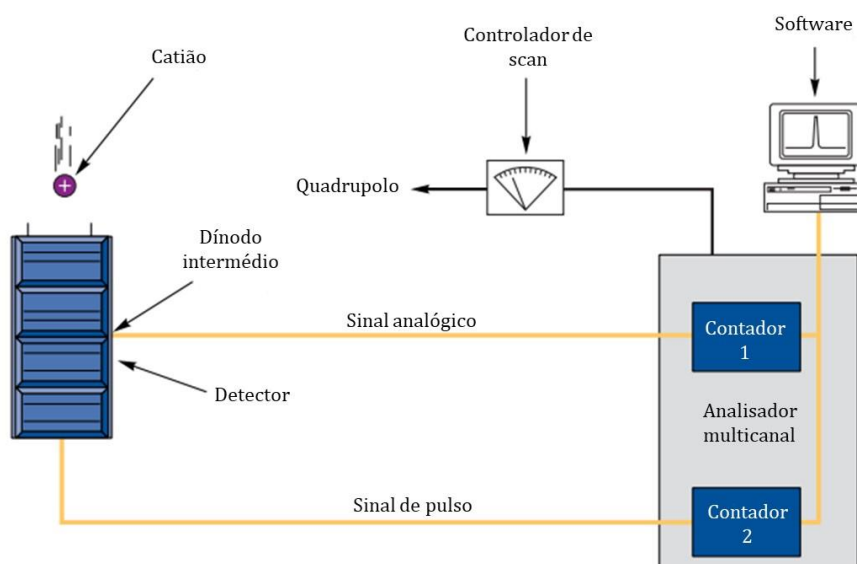


Figura 1.18 - Circuito de detecção do sinal por dois modos¹⁰¹.

O sistema de detecção efectua contagens de dois modos distintos, o analógico e o *pulse-counting*, como pode ser observado na figura 1.18. Normalmente o modo de *pulse-counting* (contagem digital) é utilizado porque permite uma detecção de alta sensibilidade para elementos em baixa quantidade. No entanto, quando o sinal é demasiado intenso, o modo analógico é automaticamente preterido em relação ao modo de *pulse-counting*, de forma a evitar danos no detector. O modo analógico consiste na diminuição do factor de multiplicação dos electrões, que se pode alcançar diminuindo o potencial do detector ou colectando apenas parte dos electrões gerados. A utilização dos dois modos permite a medição de concentrações baixas e altas na mesma amostra.

O tempo de vida de um detector corresponde a 1 ou 2 anos, durante este período a sensibilidade do detector diminui lentamente e a voltagem tem de ser aumentada periodicamente de forma a recuperar a sensibilidade original ^{37,101–104}.

1.4.2.7 Interferências

Subjacentes à técnica de ICP-MS existem várias causas de interferências, que se não forem corrigidas induzem em erro a análise da contagem dos metais. As interferências podem ser espectrais ou não-espectrais ¹⁰⁴.

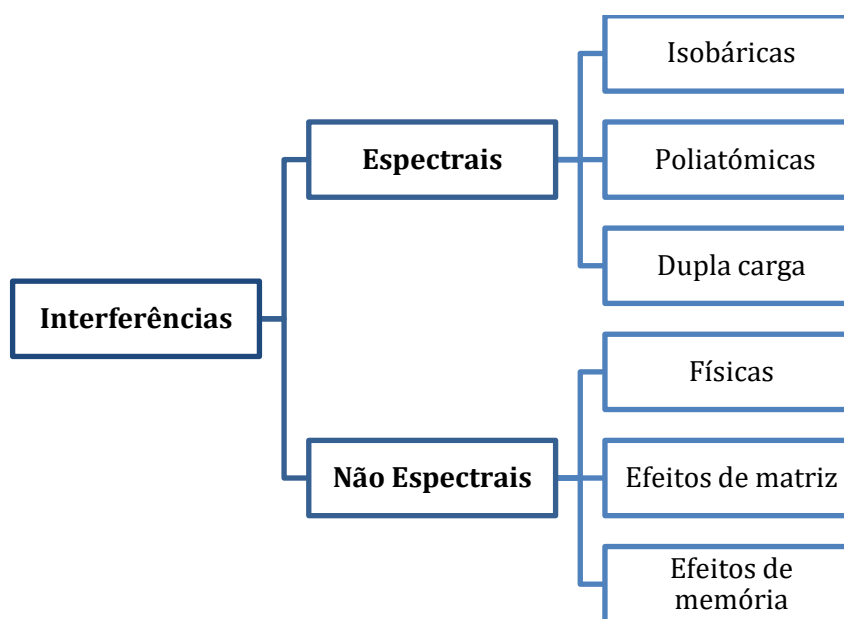


Figura 1.19 - Esquema dos vários tipos de interferências em ICP-MS.

1.4.2.7.1 Interferências Espectrais

As interferências espectrais podem ser isobáricas, poliatómicas ou de dupla carga.

Quando elementos diferentes possuem isótopos com a mesma relação m/z , ocorrem interferências espectrais isobáricas. Por exemplo, o vanádio ocorre na forma dos isótopos de massa 50 e 51 u.m.a, no entanto, devido a outro tipo de interferência só deve ser lida a massa 50, que coincide com isótopos de titânio e crómio. A solução é a correção matemática através da relação entre a abundância relativa dos interferentes e a abundância relativa do analito.

As interferências espectrais poliatómicas devem-se à combinação de dois ou mais iões. Ocorrem principalmente na região de formação do plasma ou na região de interface, através da recombinação

de espécies devido à diminuição de pressão e temperatura. Muitas destas interferências são causadas pela combinação de iões do gás do plasma com iões de outras espécies. Por exemplo, a espécie poliatómica $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$, normalmente formada quando o argon é o gás de plasma e/ou gás nebulizador, interfere com $^{75}\text{As}^+$. Outra fonte igualmente comum de interferências poliatómicas trata-se da combinação dos elementos presentes na amostra com H, ^{16}O ou ^{16}OH , provenientes do ar ou da água, formando hidretos e óxidos em zonas de menor temperatura do plasma. Um exemplo deste caso trata-se da espécie poliatómica $^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}^+$ que tem maior propensão a formar-se quando o teor de óxidos é abundante, interferindo com a leitura de $^{51}\text{V}^+$ ^{101,103}. A correcção deste tipo de interferências é conseguida através de equações matemáticas representadas por funções lineares em que o declive representa o factor de correcção que tem em consideração a cinética de formação da poliatómica e a relação entre os isótopos presentes na mesma.

As interferências de dupla carga são causadas pela formação de um ião com dupla carga positiva, que produz um pico com metade da intensidade, uma vez que a razão m/z diminui para metade. Estas interferências são influenciadas pelas condições de ionização no plasma e podem ser diminuídas através da optimização do fluxo do gás nebulizador, da RF e do posicionamento da tocha ¹⁰¹.

1.4.2.7.2 Interferências Não Espectrais

As interferências não espectrais podem ser físicas, por efeitos de matriz, ou efeitos de memória. São originadas no processo de nebulização, no plasma, na região de interface ou no sistema de lentes.

As interferências físicas são causadas por alterações de propriedades entre soluções que afectam a eficiência de nebulização, devem ser evitadas pelo uso de matrizes de amostras e de padrões o mais semelhantes possível e sob a mesma temperatura. O uso de padrões internos corrige interferências físicas que possam ocorrer no processo de nebulização. Adicionalmente, o uso de uma bomba peristáltica permite diminuir estas interferências, uma vez que assegura um fluxo constante, independentemente das diferenças na viscosidade entre amostra, padrões e brancos ¹⁰¹.

As interferências por efeitos de matriz suprimem o sinal dos analitos e são causadas pelo impacto na formação de gotículas no nebulizador ou pela selecção das mesmas na câmara de nebulização.

Por último, os efeitos de memória ocorrem quando o sinal de um analito de uma amostra analisada previamente afecta o sinal da amostra seguinte. Deve ser sempre usada uma solução de lavagem entre amostras para evitar este efeito. ^{101,104,108,109}.

1.4.2.8 Contaminações

Como já foi referido, a técnica de ICP-MS é altamente sensível e muitas vezes utilizada em análise de elementos vestigiais, o que torna esta técnica muito susceptível a contaminações das amostras. Estas podem ter variadas origens, nomeadamente, na atmosfera do laboratório, no material laboratorial, na amostra, nos reagentes e respectivos recipientes, e no analista ¹⁰³.

A contaminação através da atmosfera laboratorial é a que possui maior impacto para a determinação de elementos abundantes na crosta terrestre ou de fontes antropológicas. Estes contaminantes encontram-se sempre presentes na forma de partículas de pó e são transportados pelo ar com a movimentação do trabalho laboratorial. A melhor forma de minimizar este tipo de contaminação é evitar

a geração, transporte e deposição destas partículas, o que pode ser alcançado com o bom planeamento de construção do laboratório, uso de um filtro de ar de alta eficiência (HEPA), câmaras de fluxo laminar e com uma rotina de limpeza adequada ¹⁰³.

Durante os processos de amostragem, armazenamento e preparação de amostra, a amostra entra em contacto com vários recipientes e utensílios laboratoriais que podem contaminá-la. Os materiais mais comuns para a análise de metais vestigiais são o polietileno, o polipropileno e polímeros fluorinados. Os recipientes devem ser todos descontaminados antes de entrarem em contacto com a amostra ¹⁰³. Os reagentes devem ter um elevado grau de pureza ¹⁰³.

O analista pode ser uma das maiores causas de contaminação da amostra. Uma pessoa gera aproximadamente 100.000 partículas por minuto quando imóvel e 1.000.000 partículas por minuto quando em movimento. As fontes significativas de contaminação do ser humano são a pele e o cabelo. Os produtos cosméticos, a tinta para cabelo, a utilização de relógios, pulseiras e outros adereços são fontes de vários metais que podem contaminar a amostra ¹⁰³. A utilização de luvas e bata é imprescindível. É aconselhado o uso de luvas de PVC, latex ou nitrilo, isentas de pó talco para as análises efectuadas em ICP-MS ³⁵.

1.5 Validação de um método analítico

A obtenção de resultados não é garantia de qualidade dos mesmos. Deve ser efectuada uma validação do método utilizado envolvendo um estudo de parâmetros por avaliação directa e indirecta, que, assegurem, inequivocamente, a qualidade dos resultados.

1.5.1 Avaliação Directa

Consiste em conhecer a exactidão do método de trabalho. Esta é definida como a “concordância entre o valor obtido e o valor convencionalmente aceite como verdadeiro” ¹¹⁰, o que implica o conhecimento do valor verdadeiro, no entanto essa noção tem sido difícil de estabelecer. Os valores certificados de Materiais de Referência Certificados (MRC), ensaios interlaboratoriais e testes comparativos são reconhecidos internacionalmente como valores verdadeiros ¹¹⁰. Contudo, para alguns métodos de medição, não é possível determinar um valor verdadeiro, mas pode ser considerado um valor de referência recorrendo a outro método ou preparando uma amostra conhecida. Normalmente a exactidão é expressa através do erro sistemático total ¹¹¹.

1.5.1.1 Material de Referência Certificado

É um material ou substância em que o valor de uma ou mais propriedades foram certificados por um processo válido e pode ser utilizado na calibração de um equipamento ou na avaliação de um método. Encontra-se sempre acompanhado de um certificado ou outro documento emitido pela entidade certificadora ¹¹⁰.

Após a análise do MRC, o valor obtido deve ser comparado com o valor certificado e verificar se a diferença entre estes se encontra dentro do intervalo de incerteza previsto. Cabe ao laboratório decidir se a diferença é ou não significativa e o nível de tolerância que deve adoptar ¹¹⁰.

1.5.1.2 Ensaios interlaboratoriais

Consoante os objectivos a atingir, existem três tipos de ensaios interlaboratoriais que podem ser adoptados, os de aptidão, de normalização e de certificação. Os ensaios interlaboratoriais de aptidão e de certificação atestam a exactidão dos resultados, enquanto os ensaios de normalização avaliam a precisão através de estudos de reprodutibilidade e repetibilidade¹¹⁰.

1.5.1.3 Testes Comparativos

Geralmente realizam-se no mesmo laboratório. Consistem na comparação de resultados obtidos a partir do método a validar com resultados de referência obtidos via outro método. Os resultados consideram-se aceitáveis se o coeficiente de variação relativo e o erro relativo forem inferiores ou iguais a 10%, podem ainda ser utilizados testes estatísticos de comparação entre métodos ¹¹².

1.5.2 Avaliação Indirecta

Baseia-se na determinação dos seguintes parâmetros: praticabilidade, especificidade/selectividade, quantificação (limite de detecção e de quantificação, gama de trabalho, curva de calibração, linearidade, sensibilidade), precisão (repetibilidade, precisão intermédia, reprodutibilidade) e robustez.

1.5.2.1 Praticabilidade

É determinada pela capacidade do laboratório para executar o método a validar. Essa capacidade varia consoante a disponibilidade de reagentes, equipamentos, meios humanos, espaço físico, condições ambientais e a extensão do processo¹¹². É o primeiro aspecto a ser considerado antes de se proceder à validação de um método de ensaio.

1.5.2.2 Especificidade / Selectividade

A selectividade é a capacidade de o método identificar e distinguir um analito de uma mistura complexa, sem que haja interferências dos restantes componentes da mistura. Um método específico tem uma selectividade elevada. Em muitos métodos, a selectividade é avaliada qualitativamente, mas pode ser igualmente estudada através de ensaios de recuperação com vários tipos de amostras. Um método pode ser considerado específico e selectivo quando se verificar que as taxas de recuperação são próximas de 100%, no entanto, os critérios de aceitação podem variar consoante o método e o laboratório ^{112–114}.

1.5.2.3 Quantificação

Existem alguns parâmetros que se baseiam na quantificação das amostras e cujo cálculo permite a interpretação dos resultados obtidos. Destes, destacam-se os limites analíticos do método de ensaio, a sensibilidade e as curvas de calibração¹¹³.

1.5.2.3.1 Curva de Calibração

A curva de calibração é conseguida através da preparação de soluções padrão com concentrações conhecidas do analito (deverão incluir a gama de trabalho), as quais são medidas no mesmo

equipamento e sob as mesmas condições analíticas das amostras. Deve desenhar-se um gráfico de sinal do equipamento em função da concentração do analito e determinar-se, por interpolação, a concentração de analitos nas amostras ^{112,113,115}. O traçado da curva de calibração deve ser efectuado recorrendo ao método dos mínimos quadrados e o seu coeficiente de correlação deve ter valor superior a 0,995 ^{112,113}.

1.5.2.3.2 Gama de Trabalho

Todos os métodos que implicam a utilização de curvas de calibração, necessitam da determinação de uma gama de trabalho ¹¹⁵. Para os métodos que não implicam o traçado de curvas de calibração, a gama de trabalho deverá ser definida previamente, em função da quantidade de amostra e de outros factores ^{112,113}.

A escolha da gama de trabalho deverá ser feita consoante: o objectivo prático da calibração, a viabilidade da capacidade de realização e a independência que a variância dos valores deve ter da concentração. Esta última é verificada através de um teste à linearidade¹¹⁵.

A gama de trabalho deverá ter no seu centro a concentração de amostra mais frequentemente esperada e os valores medidos, que se situem perto do limite inferior, serem distinguíveis dos brancos do método. Assim, o limite inferior da gama de trabalho deve ser igual ou superior ao limite de detecção do método¹¹⁵.

1.5.2.3.3 Linearidade

Pode ser avaliada pela representação gráfica da curva de calibração e da análise do coeficiente de correlação, ou pela realização dos testes de Mandel, de RIKILT e da análise de resíduos ^{112,115,116}.

1.5.2.3.4 Limiares Analíticos

Existem várias formas de cálculo dos limites analíticos de um método de ensaio. Nos casos em que a amostra não é analisada directamente, passando por um pré-tratamento, devem distinguir-se os limites de detecção e de quantificação instrumental dos limites da metodologia. Os primeiros dependem apenas do equipamento usado na análise, pelo que são geralmente inferiores aos limites de detecção e de quantificação da metodologia, estes além do equipamento consideram o processo de preparação da amostra ^{108,116}.

Limite de Detecção

O limite de detecção (LD) da metodologia corresponde à menor quantidade do analito detectável numa amostra, mas não necessariamente quantificável. A uma concentração inferior ao limite de detecção, não é possível garantir se a amostra contém ou não o analito, torna-se impossível distinguir do branco do método¹¹³. O limite de detecção pode ser calculado através da seguinte equação (10).

$$LD = \bar{X} + K\sigma \quad (10)$$

Em que, \bar{X} é a média de uma série de brancos, σ é o desvio-padrão associado a \bar{X} , e K é uma constante.

Admitindo que se trata de uma distribuição normal, para um nível de confiança de 99%, assume-se $K=3$. O limite de detecção depende da matriz do branco, por isso devem ser realizados vários ensaios de forma a que a média e desvio-padrão sejam baseados em 10 ou mais leituras ^{114,117}.

Quando o método envolve uma calibração linear, deve ter-se em conta a sensibilidade do equipamento durante a medição e o desvio-padrão deve ser relativo à curva de calibração, pelo que será usada a equação (11).

$$LD = \frac{3,3.S_{y/x}}{b} \quad (11)$$

Onde $S_{y/x}$ é o desvio padrão da curva de calibração e b é o declive da curva de calibração (sensibilidade) ^{112,113}.

Limite de Quantificação

O limite de quantificação (LQ) da metodologia é o menor valor quantificável de analito. Normalmente corresponde à solução-padrão de calibração de menor concentração. ¹¹³.

É calculado através da equação (12).

$$LQ = \bar{X} + 10\sigma \quad (12)$$

Em que, \bar{X} é a média de uma série de brancos, σ é o desvio-padrão associado a \bar{X} . Quando o método envolve uma calibração linear, o limite de quantificação passa a ser calculado pela equação (13).

$$LQ = \frac{10.S_{y/x}}{b} \quad (13)$$

Onde $S_{y/x}$ é o desvio padrão da curva de calibração e b é o declive da mesma ¹¹³.

Sensibilidade

A sensibilidade é a relação entre o aumento do sinal do equipamento para um determinado aumento da concentração do analito, avalia a capacidade de o equipamento distinguir as pequenas variações na concentração do analito. Pode ser definida pela equação (14).

$$Sensibilidade = \frac{\Delta L}{\Delta C} \quad (14)$$

Em que ΔL é o aumento do sinal e ΔC é a variação da concentração que originou o aumento do sinal. A sensibilidade é dada pelo declive da recta de calibração e é constante ao longo da gama de trabalho ¹¹³.

1.5.2.4 Precisão

Ensaio realizados com substâncias idênticas, em circunstâncias idênticas, geralmente, não geram resultados idênticos, pelo que é necessário considerar a precisão do método.

Existem diversos factores que contribuem para a variabilidade de resultados num método analítico, nomeadamente, o operador, o equipamento, a calibração, o ambiente e o tempo entre medições ¹¹¹. Esta variabilidade de resultados num laboratório é representada pela precisão. Normalmente a precisão é expressa em desvio-padrão ou desvio-padrão relativo ^{110,114}.

Existem três medidas para a averiguação da precisão, a repetibilidade e a reprodutibilidade e a precisão intermédia ¹¹⁴.

1.5.2.4.1 Repetibilidade

A repetibilidade é conseguida através da utilização das mesmas condições de trabalho, ou seja, quando a medição é realizada pelo mesmo analista, reagentes e equipamento durante uma curta escala de tempo, como por exemplo, no caso de análises em duplicado ^{110,112,114}. Pode ainda ser calculada através de um número de leituras, maior ou igual a 10, de amostras idênticas. O coeficiente de variação da repetibilidade é dado pela razão entre o desvio-padrão e o valor médio das leituras¹¹².

1.5.2.4.2 Reprodutibilidade

A reprodutibilidade corresponde à precisão na variação das condições de medição, ou seja, medições efectuadas em laboratórios diferentes, com analistas, equipamentos e/ou em períodos diferentes ^{110,112}. É calculada através da variância dos resultados e pode ser obtida através de ensaios interlaboratoriais.

1.5.2.4.3 Precisão intermédia

A precisão é avaliada recorrendo à mesma amostra, amostras idênticas ou padrões, utilizando o mesmo método, no mesmo laboratório mas com analistas diferentes, em equipamentos e/ou períodos de tempo diferentes¹¹². É o método mais recomendado ¹¹⁰, por ser o que mais se aproxima da realidade de um laboratório.

A precisão intermédia é obtida pelo desvio-padrão de n resultados ¹¹².

1.5.2.5 Robustez

A robustez de um método indica a sua capacidade de resistir a variações que ocorram na sua execução. Consiste em identificar as variáveis com maior peso na aplicação do método e que podem impedir o seu correcto funcionamento e garantir que são estritamente controladas durante o método¹¹⁴.

É o passo final da validação e só é aplicado quando o laboratório pretende propor um método padrão ou de referência¹¹².

1.5.3 Incerteza Global do Método

Segundo a IUPAC, a incerteza é um parâmetro associado ao resultado de uma medição que caracteriza a dispersão de valores que podiam ser atribuídos ao mensurando ¹¹⁸. Este parâmetro pode

ser um intervalo, um desvio-padrão, ou outra medida de dispersão. A mensuranda é a grandeza que se pretende medir (concentração, comprimento, massa, etc.).

A incerteza está associada a cada resultado, sendo que normalmente este é indicado como $x \pm U$, onde x é o resultado e U é a incerteza expandida. Subentende-se que o valor da mensuranda encontra-se dentro do intervalo indicado^{117,119}.

A incerteza não deve ser confundida com erro. O erro é a diferença entre um resultado individual e o valor verdadeiro do mensurando, trata-se de um único valor, enquanto que a incerteza, como foi anteriormente referido, é um intervalo e pode ser aplicada a todas as determinações¹¹⁷.

A incerteza do resultado é influenciada pelas etapas analítica e de amostragem, pelo que deve existir um conhecimento de todo o processo analítico. A amostragem apresenta uma das maiores contribuições para a incerteza de um resultado¹¹⁹.

Para resultados perto do limite de quantificação, a incerteza pode ser expressa como valor absoluto, mas para resultados com um valor superior pode ser expressa como um valor relativo.

Segundo o Guia do IPAC¹²⁰, existem várias abordagens que podem ser utilizadas para o cálculo de incertezas, nomeadamente:

- a) Abordagem passo a passo, ou na nomenclatura inglesa “bottom-up”;
- b) Abordagem baseada em dados interlaboratoriais;
- c) Abordagem baseada em dados da validação e controlo de qualidade do método analítico

1.5.3.1 Abordagem passo a passo

As várias fontes de incerteza devem ser identificadas e a mensuranda deve ser expressa de acordo com as várias variáveis de entrada. Deve-se quantificar a incerteza padrão associada a todas as fontes de incerteza.

Pode considerar-se que as incertezas associadas a uma medição têm origem em erros aleatórios e sistemáticos que ocorrem durante o processo de obtenção de resultados. Normalmente quantificados como precisão da amostragem, precisão analítica, tendência da amostragem e tendência analítica¹¹⁹.

1.5.3.2 Incerteza combinada

Quando a incerteza da mensuranda é obtida pela combinação das incertezas das estimativas das variáveis de entrada, é designada por incerteza combinada e representada por $u_c(y)$.

As componentes da incerteza combinada (u_c) que tenham uma dimensão inferior a 1/5 da fonte de incerteza mais elevada podem ser consideradas desprezáveis¹²⁰.

Quando o cálculo da mensuranda (y) envolve apenas a adição ou subtracção das variáveis de entrada, em que existe uma correlação entre variáveis, a incerteza combinada é calculada através da equação (15).

$$u_c^2(y) = \sum_{i=1}^N \left(\frac{dy}{dx_i} \right)^2 u^2(x_i) + 2 \sum_{i=1}^{N-1} \sum_{j=i+1}^N \frac{dy}{dx_i} \frac{dy}{dx_j} u(x_i, x_j) \quad (15)$$

Por exemplo, no cálculo $y = p + q - r$

$$u_c(y) = \sqrt{u(p)^2 + u(q)^2 + u(r)^2} \quad (16)$$

No entanto, se o cálculo do mensurando envolver uma multiplicação ou uma divisão a incerteza combinada já deve ser calculada pela equação (17).

$$u_c^2(y) = \sum_{i=1}^N \left(\frac{\partial y}{\partial x_i} \right)^2 u^2(x_i) \quad (17)$$

Por exemplo, no cálculo $y = p \times q / r$, a incerteza combinada seria calculada através da equação (18).

$$u_c(y) = y \times \sqrt{\left[\frac{u(p)}{p} \right]^2 + \left[\frac{u(q)}{q} \right]^2 + \left[\frac{u(r)}{r} \right]^2} \quad (18)$$

1.5.3.3 Incerteza expandida

A incerteza expandida (U) é obtida pela multiplicação da incerteza combinada por um factor de expansão (k), o qual pode ser determinado conforme o nível de confiança pretendido de acordo com a distribuição normal ou a distribuição de t-Student. A ISO 11352 recomenda o uso de um factor de $k=2$, o que corresponde a um intervalo de confiança de 95% ¹²¹.

$$U = k \times u_c(y) \quad (19)$$

1.5.3.4 Abordagem baseada em dados de validação e do controlo interno da qualidade

A melhor estimativa para o valor esperado de uma quantidade que varia aleatoriamente e para o qual temos n leituras independentes corresponde à média desses valores. Assim, quando a estimativa de uma variável de entrada é obtida através de n medições sob condições de repetibilidade, a incerteza é calculada através da estimativa da variância da média. A qual é dada pela equação (20).

$$s_{\bar{x}} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (20)$$

Em que n corresponde ao número de amostras e s ao desvio-padrão correspondente às n leituras.

2 Materiais e métodos

Todos os ensaios laboratoriais foram desenvolvidos em Lisboa, no Laboratório Central da EPAL. As análises foram efectuadas nas salas dos equipamentos de ICP-OES e ICP-MS. Esta última encontra-se equipada com um sistema de filtração *High Efficiency Particulate Arrestance* (HEPA), que remove pelo menos 99,97% das partículas em suspensão e com uma câmara de fluxo laminar, de forma a evitar contaminações. A temperatura ambiente é regulada por um sistema de AVAC em todas as salas do laboratório.

2.1 Pesagem e Micropipetagem

As balanças estão instaladas numa sala isolada das salas de preparação de amostra, em mesas de trabalho próprias, com humidade relativa do ar e temperatura controlados.

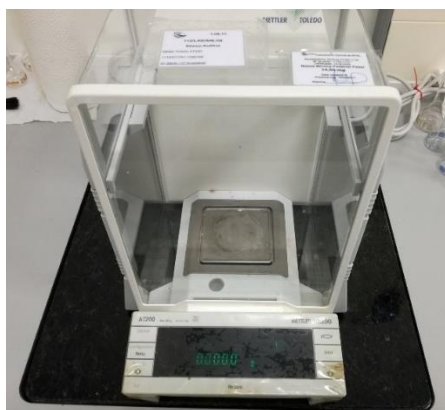


Figura 2.1 – Balança, AT200 da Mettler Toledo, de resolução 0,0001g.

A balança na figura 2.1 foi usada preferencialmente, excepto para medições superiores a 250g, durante as quais utilizei a balança na figura 2.2.

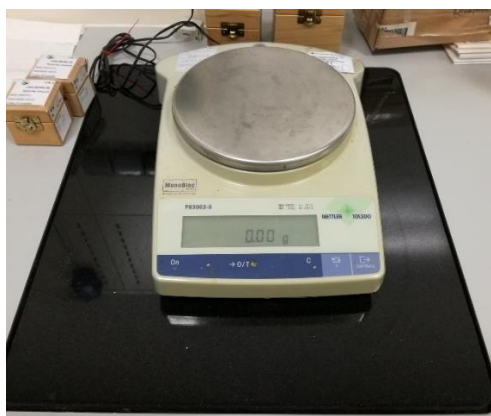


Figura 2.2 - Balança, PB 3002-S da Mettler Toledo, de resolução 0,01g.

A manutenção e calibração das balanças é efectuada anualmente por uma entidade acreditada. Todas as micropipetas utilizadas durante a preparação de amostra ou de soluções eram da *Ependorf*, são verificadas de 6 em 6 meses e calibradas anualmente por uma entidade externa.

2.2 Reagentes e soluções

Ácido nítrico (HNO_3) bidestilado

O ácido nítrico bidestilado foi usado na preparação de amostras, brancos, padrões, lavagem do material e do sistema de introdução de amostra. Era produzido diariamente no laboratório a partir da bidestilação de ácido nítrico (HNO_3) a 65% por um bidestilador de ácidos Milestone DUOPUR e um bidestilador Savillex DST-4000. Diariamente são produzidos lotes de 500 mL e de 1 L respectivamente, cuja pureza é avaliada por comparação com o ácido nítrico comercial *Suprapur* em ICP-MS.

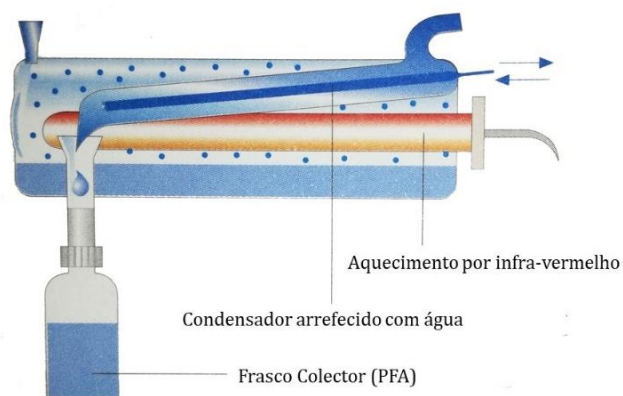


Figura 2.3 - Esquema de um destilador de ácido¹⁰³.

Ácido nítrico (HNO_3) *Suprapur* a 60%

Este ácido foi utilizado para verificar a pureza do que é produzido diariamente no laboratório. Referência Merck 1.01518.0250.

Peróxido de hidrogénio (H_2O_2) a 30%

O peróxido de hidrogénio foi utilizado na digestão por microondas e na lavagem de material. Referência Merck 1.07209 ou equivalente.

Água Ultrapura, de grau I

Toda a água utilizada nas lavagens de material e análises de metais foi produzida no momento da sua utilização pelo equipamento Elga PURELAB Ultra NA. O controlo deste tipo de água é realizado indirectamente através dos ensaios em branco em cada método de ensaio. A resistividade é lida directamente no equipamento de polimento final e deverá ser $18 \text{ M}\Omega\text{cm}^{-1}$.

Solução de lavagem ICP-MS (ácido nítrico a 4,0% (v/v))

Esta solução foi utilizada na descontaminação do ICP-MS, após o término de uma sequência de análises e entre amostras.

2.2.1 Soluções análise ICP-MS

Todas as soluções de padrão de calibração, padrão de controlo, padrão interno e respectivas soluções intermédias utilizadas durante a análise por ICP-MS foram preparadas em meio ácido com HNO₃ bidestilado a 2%, recorrendo aos padrões comerciais, seguidamente indicados na tabela 2.1, e a água ultrapura.

Tabela 2.1 - Listagem dos padrões comerciais utilizados na técnica de ICP-MS e como reforço de soluções para fins de ensaios laboratoriais ¹⁰⁹.

Metal	Concentração	Matriz	Marca	Referência
Padrões de Calibração				
Li	1000 mg/L	Li ₂ CO ₃ 5% HNO ₃	Alfa Aesar	13821
Be		Be ₄ O(C ₂ H ₃ O ₂) ₆ 5% HNO ₃		13848
Al		Al(NO ₃) ₃ 5% HNO ₃		38727
V		V ₂ O ₅ 5% HNO ₃		13850
Cr		Cr(NO ₃) ₃ 5% HNO ₃		38728
Mn		Mn 5% HNO ₃		13826
Co		Co 5% HNO ₃		13828
Ni		Ni 5% HNO ₃		13839
Cu		Cu 5% HNO ₃		13867
Zn		Zn 5% HNO ₃		13835
As		As 5% HNO ₃		13836
Se		Se 5% HNO ₃		13845
Sr		Sr(NO ₃) ₂ 5% HNO ₃		13874
Ag		Ag 5% HNO ₃		13849
Cd		Cd 5% HNO ₃		13893
Sb		Sb H ₂ O/ ác. tartárico/ tr. HNO ₃		41682
Ba		Ba(NO ₃) ₂ 5% HNO ₃		13876
Pb		Pb 5% HNO ₃		13853
Mo		Mo 5% HNO ₃ / tr. HF		35758
Tl		Tl 5% HNO ₃		13851
U	10 mg/L	UO ₂ (NO ₃) ₂ 2-3% HNO ₃	SCP SCIENCE	140-051-920
Padrões de Controle				
ICS 2 Intrument Calibration Standard 2	Ag Al As Ba Be Cd Co Cr Cu Mn Mo Ni Pb Sb Se Sn V Zn 100 mg/L	5% HNO ₃ / Traços ácido tartárico e ácido fluorídrico	SPEX CertiPrep	CL-CAL-2
Al	1000 mg/L	Al(NO ₃) ₃ 2-3% HNO ₃	Merck	1.70301.0100
Se		SeO ₂ 2-3% HNO ₃		1.70350.0100
Li		LiNO ₃ 2-3% HNO ₃		1.70329.0100
Zn		Zn(NO ₃) ₂ 2-3% HNO ₃		1.70369.0100
U		UO ₂ (NO ₃) ₂ 2-3% HNO ₃		1.70360.0100
Padrões Internos				
Y	1000 mg/L	Y ₂ O ₃ 5% HNO ₃	Alfa Aesar	13855
In		In 5% HNO ₃		13846
Bi		Bi 5% HNO ₃		13822

2.2.1.1 Recta de calibração

A recta de calibração foi estimada aplicando o método dos mínimos quadrados, com seis soluções-padrão de concentrações o mais equidistantes possível na gama de trabalho. A menor concentração da gama de trabalho era igual ou superior ao limite de quantificação instrumental. Todas as soluções-padrão utilizadas possuíam uma matriz semelhante à das amostras a analisar ¹⁰⁸.

2.2.1.2 Padrão interno

O uso de padrões internos permitiu corrigir instabilidades instrumentais, desvios de sinal, interferências físicas na nebulização, fenómenos de transporte massa/carga no espectrómetro de massa e fenómenos de ionização no plasma. Teoricamente, os elementos mais adequados para serem usados como padrão interno são espécies não interferentes e monoisotópicas que não devem estar presentes na amostra. Com base na avaliação realizada por Luís ³⁵, os metais utilizados como padrão interno foram o ítrio, o índio e o bismuto (padrões indicados na tabela 2.1).

2.2.1.3 Padrão de Controlo

A solução de padrão de controlo teve como composição os padrões comerciais de metais de uma marca distinta dos padrões utilizados nas soluções da recta de calibração. A sua utilização permitiu garantir a rastreabilidade de forma independente dos padrões da recta de calibração e verificar a ocorrência de desvios na recta de calibração durante a leitura de amostras. Os padrões utilizados encontram-se na tabela 2.1.

2.2.1.4 Solução de Branco ICP-MS

Consistiu numa solução de 2% de HNO₃ bidestilado em água ultrapura com 10 µg/L de padrão interno. Permitiu avaliar a ocorrência de contaminações provenientes do material, dos reagentes e da manipulação do analista.

2.2.1.5 Preparação de Amostras ICP-MS

A solução utilizada para a preparação de amostras era composta por 2,2% de HNO₃ bidestilado e 11,1 µg/L de padrão interno e garantiu que todas as amostras possuíam a quantidade adequada de padrão interno. A diluição utilizada nas amostras foi de 1/10.

2.2.1.6 Material de Referência Certificado (MRC)

Na sequência analítica do ICP-MS foi utilizado o MRC 23.4, adquirido à *Environment Canada*, este é constituído por água filtrada e diluída do lago Ontário preservada a 0,2% de ácido nítrico. Na tabela 3.2 encontram-se as concentrações dos analitos presentes neste MRC, determinadas através do programa *Environment Canada Proficiency Testing*.

Tabela 2.2 – Concentração de metais numa amostra fortificada com elementos vestigiais (MRC 23.4). As incertezas apresentadas correspondem à incerteza expandida com intervalo de confiança de 95%.

Mensurando	Concentração (µg/L)	Incerteza (µg/L)
Ag	4,8	0,4
Al	94,3	9,3
As	8,1	0,6
B	18,1	2,7
Ba	14,3	1,0
Be	2,0	0,2
Bi	3,5	1,0
Cd	2,9	0,3
Cr	6,8	0,6
Co	7,1	0,6
Cu	8,5	0,8
Fe	14,7	2,4
Li	2,0	0,3
Mn	8,8	0,6
Mo	4,2	0,4
Ni	5,0	0,6
Pb	3,0	0,3
Ru	0,8	0,1
Sb	3,3	0,3
Se	4,6	0,7
Sn	2,8	0,3
Sr	111,0	7,3
Ti	3,2	0,5
Tl	4,0	0,3
V	1,9	0,2
U	5,0	0,4

2.2.2 Soluções análise ICP-OES

2.2.2.1 Solução de lavagem ICP-OES (ácido nítrico a 2,0% (v/v))

Esta solução de lavagem foi utilizada para garantir a descontaminação do ICP-OES entre cada injeção de amostra.

2.2.2.2 Solução de lavagem ICP-OES (ácido nítrico a 10% (v/v) e ácido clorídrico a 10% (v/v))

Esta solução foi utilizada durante a descontaminação de todo o sistema de ICP-OES antes do início do método.

2.2.2.3 Solução de Branco ICP-OES

Consistiu numa solução de 0,5% de HNO₃ bidestilado.

2.2.2.4 Soluções Padrão ICP-OES

Tabela 2.3 - Listagem dos padrões comerciais utilizados na técnica de ICP-OES ¹⁰⁰.

Metal	Concentração	Matriz	Marca	Referência
Padrões de Calibração				
Al	1000 mg/L	Al 4% HNO3	SCP SCIENCE	140-051-131
B		B H2O		140-050-051
Ba		Ba 4% HNO3		140-051-561
Be		Be 4% HNO3		140-051-041
Cu		Cu 4% HNO3		140-051-291
Fe		Fe 4% HNO3		140-051-261
Mn		Mn 4% HNO3		140-051-251
P		P H2O		140-050-151
Sc		Sc 4% HNO3		140-051-211
Zn		Zn 5% HNO3		Alfa Aesar
Ca	CaCO3 5% HNO3	14407		
Mg	Mg 5% HNO3	14430		
Na	Na2CO3 5%HNO3	14400		
K	KNO3 5% HNO3	14379		
Padrões de Controle				
Al	1000 mg/L	Al (NO3)3 2-3% HNO3	Merck	1.70301.0100
B		H3BO3 H2O		1.70307.0100
Ba		Ba(NO3)2 2-3% HNO3		1.70304.0100
Be		Be4O(C2H3O2)6 2-3% HNO3		1.70305.0100
Cu		Cu(NO3)2 2-3% HNO3		1.70314.0100
Fe		Fe(NO3)3 2-3% HNO3		1.70326.0100
Mn		Mn(NO3)2 2-3% HNO3		1.70332.0100
P		H3PO4 H2O		1.70340.0100
Zn		Zn(NO3)2 2-3% HNO3		1.70369.0100
Ca	10000 mg/L	Ca(NO3)2 2-3% HNO3	1.70373.0100	
Mg		Mg(NO3)2 2-3% HNO3	1.70379.0100	
Na		NaNO2 2-3% HNO3	1.70381.0100	
K		KNO3 2-3% HNO3	1.70377.0100	

2.3 Amostragem Passiva

2.3.1 Dispositivos utilizados

Neste trabalho foram utilizados amostradores DGT construídos pela *ExposMeter AB*, sediada na Suécia, e comercializados em Portugal pela *Ambifirst – Monitorização Ambiental, Unipessoal, Lda*. A vantagem da aquisição de amostradores já montados recai no facto de terem sido preparados em série, por pessoal experiente, num laboratório dedicado à sua construção, e estarem prontos a uso.

Foram utilizados dois tipos de dispositivos *EWM Exposmeter® Metal for Water* e *EWM-As Exposmeter® Arsenik for Water*. A tabela 2.4 apresenta um resumo das características destes amostradores.

Tabela 2.4 - Quadro-resumo das características e componentes dos amostradores passivos utilizados.

Tipo de amostrador	Referência	Abreviatura	Analitos ²	Filtro Mem.	Gel de difusão	Área de exposição	Camada Receptora
DGT	EWM Exposmeter Water Metal	DGT - Me	Cd, Co, Ni, Cu, Zn, Pb, Fe, Mn, Al	polieter sulfona	Poliacrila mida	3,14 cm ²	Chelex - 100
	EWM-As Exposmeter Water Arsenik	DGT - As	As				Hidrogel com óxido de ferro

2.3.2 Colocação dos amostradores na matriz

2.3.2.1 Construção dos suportes para os amostradores

A colocação dos amostradores passivos em albufeira, em reservatórios e a sua utilização num dos ensaios laboratoriais, implicou a criação de suportes próprios para esse efeito. O engenheiro André Oliveira disponibilizou-se para o desenho e fabrico dos mesmos, via impressão 3D, na oficina da EPAL. No entanto, surgiu a questão de qual seria o polímero adequado para o seu fabrico. Assim, foram impressos dois polímeros diferentes. Utilizou-se uma impressora montada manualmente, uma bobina de ácido polilático (PLA) azul, uma bobina de acrilonitrilo butadieno estireno (ABS) incolor e o software SketchUP[®].

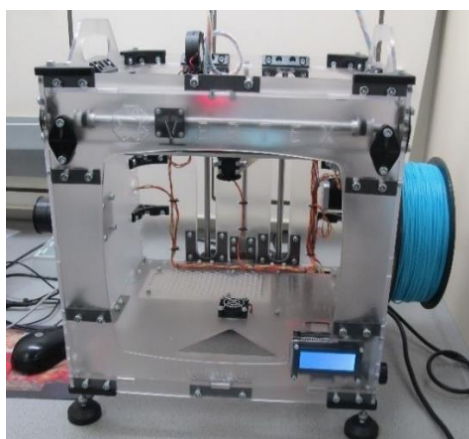


Figura 2.4 - Impressora 3D do Laboratório Central da EPAL.

A figura 2.5 A) ilustra a impressão 3D, o objectivo final consistia na construção de dois tipos de suporte, o da figura 2.5 B) foi utilizado num ensaio laboratorial enquanto que o da figura 2.5 C) foi utilizado na albufeira e na ETA de Santa Águeda e no reservatório dos Olivais.

² Indicação do fornecedor, na prática testámos a medição de mais analitos.

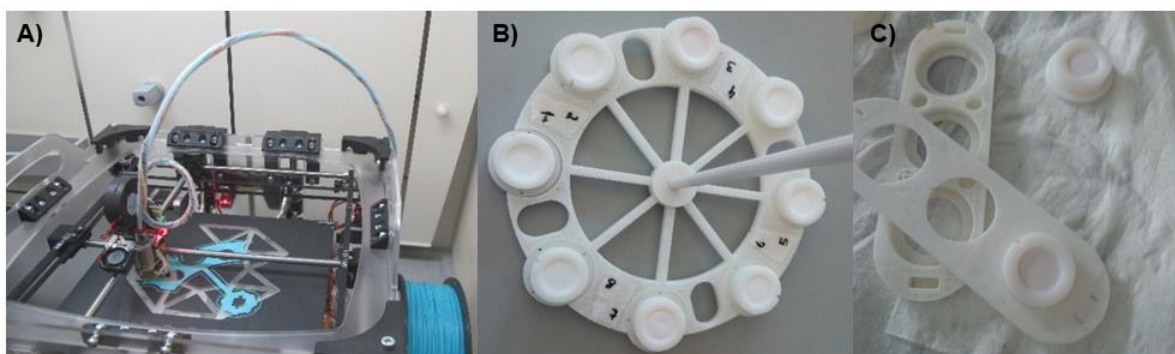


Figura 2.5 - A) Processo de impressão de PLA; B) Suporte circular (ABS); C) Suporte portátil (ABS).

Imprimiram-se os polímeros PLA e ABS, com 26,39 cm² de área superficial cada, de forma a testar a possibilidade de contaminação por parte destes.

Decidi garantir uma proporção semelhante à que existiria entre o suporte e a matriz a estudar em laboratório. Assim, sabendo que o suporte circular teria 300 cm² de área superficial e seria colocado num recipiente de 16 L de água, utilizei um recipiente de 2 L, para cada polímero, no qual foram colocados 1,4 L de água com HNO₃ a 0,5%.

A solução foi reforçada com o teor de metais descrito na tabela 2.5. O urânio foi adicionado com uma concentração mais elevada do que os restantes, pois os cálculos não foram adequadamente adaptados ao padrão comercial utilizado. Foi também utilizado um recipiente de 2 L como controlo. Os polímeros permaneceram em contacto com a água acidificada durante 3 dias.

Tabela 2.5 - Teor de metais adicionados à solução de teste de polímeros.

Metais	Teor adicionado (µg/L)
Li	0,3
Be	0,15
Al	1,5
V	0,3
Cr	0,3
Mn	0,15
Co	0,15
Ni	0,3
Cu	0,3
Zn	1,2
As	0,15
Se	0,6
Sn	0,15
Mo	0,15
Ag	0,15
Cd	0,15
Sb	0,15
Ba	0,3
Tl	0,15
Pb	0,15
U	15,0

2.3.2.2 Ensaio no Reservatório dos Olivais

O reservatório de água dos Olivais faz parte da Estação Elevatória dos Olivais e localiza-se junto ao Laboratório Central da EPAL, na Avenida de Berlim, em Lisboa. Foi a primeira localização escolhida para testar o funcionamento dos amostradores passivos devido à sua proximidade, à facilidade de deslocação para o local e ao facto de possuir uma matriz de água controlada.

O local de colocação dos amostradores DGT foi escolhido de forma a proporcionar o maior fluxo possível de água e a estar próximo do ponto de colheita de amostras pontuais, correspondente a uma torneira exterior à casa de água norte em frente à célula I do reservatório, ver figura 2.6.

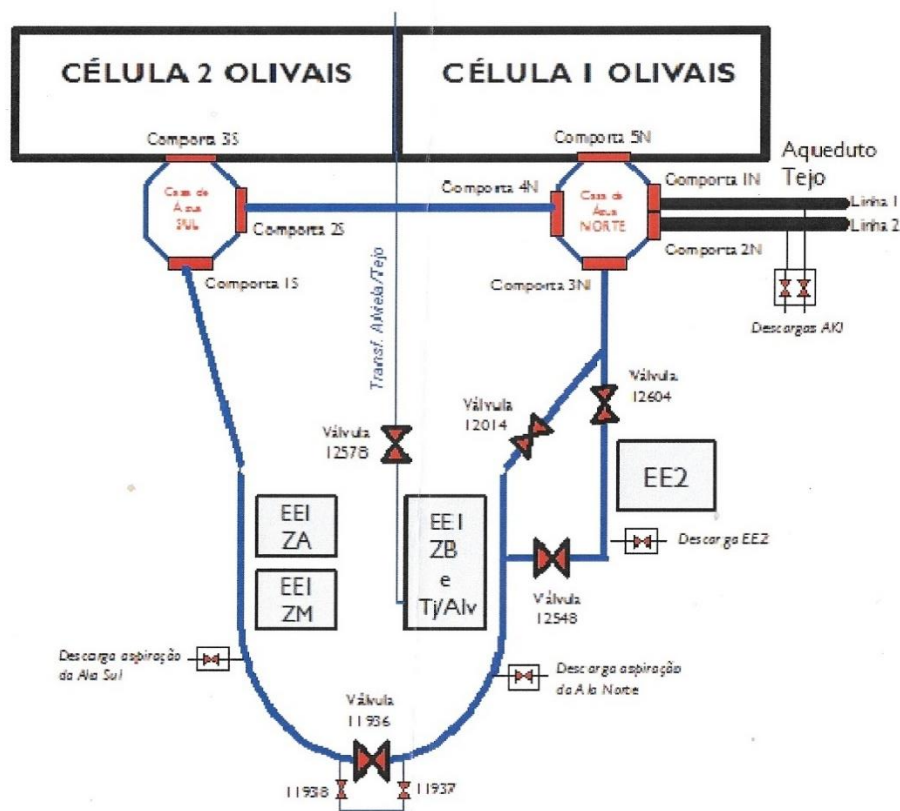


Figura 2.6 - Representação esquemática da Estação Elevatória dos Olivais.

Assim, foi escolhido o respiradouro mais próximo da casa de água norte para a instalação dos amostradores passivos, ver figura 2.7.

Durante a instalação dos suportes com amostradores passivos recorreu-se a um peso de cimento, a uma corda e a braçadeiras de plástico. No total, foram utilizados dois suportes impressos em ABS, um com três amostradores DGT – Me e outro com três amostradores DGT – As. Os amostradores passivos ficaram expostos durante 11 dias.



Figura 2.7 - Local de colocação dos amostradores passivos no reservatório dos Olivais. À esquerda, a superfície da célula I do reservatório, à direita, o respiradouro utilizado

2.3.2.3 Ensaio na Albufeira e ETA de Santa Águeda

A barragem de Santa Águeda localiza-se num afluente do rio Tejo, o rio Ocreza, no distrito e concelho de Castelo Branco. A Estação de Tratamento de Água de Santa Águeda capta água da barragem de Santa Águeda e abastece as populações dos concelhos de Castelo Branco, de Idanha-a-Nova e de Vila-Velha de Ródão ¹²².



Figura 2.8 - Localização da ETA e Albufeira de Santa Águeda, com os locais de instalação dos amostradores passivos e recolha de amostras pontuais assinalados a vermelho.

A instalação dos amostradores passivos foi realizada no exterior da casa de água da albufeira. Recorrendo-se a uma boia, um peso de cimento, uma corda, 2 suportes em ABS e braçadeiras de plástico para esse propósito.



Figura 2.9 - Local de colocação dos amostradores passivos na albufeira de Santa Águeda, à esquerda, a casa de água, à direita, a colocação dos amostradores passivos.

À semelhança do que já tinha sido realizado no Reservatório dos Olivais, a instalação de amostradores passivos na ETA de Santa Águeda foi realizada a partir de um respiradouro do reservatório (figura 2.10) que se encontrava o mais próximo possível do local de captação de amostras pontuais e que, simultaneamente, garantia um fluxo de água suficiente para o bom funcionamento dos dispositivos.



Figura 2.10 - Local de colocação dos amostradores passivos na ETA de Santa Águeda.

Tanto na albufeira, como na ETA de Santa Águeda foram colocados três amostradores DGT-Me e três amostradores DGT-As, que ficaram expostos à matriz durante 15 dias.

2.3.3 Recolha e desmontagem dos amostradores

No caso dos ensaios laboratoriais, os dispositivos não necessitaram de transporte ou armazenamento por já se encontrarem dentro das instalações do laboratório. A extracção da resina foi realizada imediatamente após a remoção dos amostradores DGT da matriz em estudo.

No caso do ensaio no Reservatório dos Olivais, os amostradores passivos foram recolhidos e transportados numa geleira, dentro de recipientes previamente descontaminados, em contacto com água do reservatório. A sua desmontagem e extracção foi realizada imediatamente após a chegada ao laboratório.

A recolha e transporte dos amostradores na ETA e na albufeira de Santa Águeda foi assegurada por técnicos devido à logística envolvida nas deslocações. O transporte levou um dia e, após terem dado entrada no laboratório, os amostradores DGT permaneceram mergulhados nos recipientes da recolha até a desmontagem e análise ser realizada.

A desmontagem de todos os amostradores foi efectuada numa bancada limpa. Os dispositivos foram limpos exteriormente com água ultrapura, de forma a remover impurezas.



Figura 2.11 - Amostrador passivo DGT-Me proveniente da albufeira de Santa Águeda, com impurezas visíveis.

Recorreu-se a uma pinça de plástico, sem coloração, para separar a resina Chelex-100 dos restantes componentes e colocá-la no vaso de digestão. Durante o procedimento, ilustrado em parte pela figura 3.12, foram utilizadas luvas de cloreto de vinil isentas de pó talco.



Figura 2.12 - Desmontagem de um DGT-As.

2.3.4 Escolha do método de extracção

Com os métodos de extracção geralmente aplicados a amostradores DGT, Davison e Zhang⁷² consideram que a eficiência da eluição de metais da resina Chelex-100 é de aproximadamente 80%.

Com o intuito de maximizar, à semelhança de Garmo⁷⁵, apliquei condições mais agressivas de digestão, pretendendo a degradação total da resina Chelex-100 e libertação dos íons metálicos. Assim, foram testadas duas abordagens:

- Digestão, por sistema de aquecimento em bloco, usando 10 mL de água ultrapura com ácido nítrico a 10% a 30°C durante 24h;
- Digestão, em digestor por microondas, usando 20 mL de água ultrapura com ácido nítrico a 10% e 1 mL de peróxido de hidrogénio, respeitando um programa de aquecimento gradual até à temperatura de 170°C (20 minutos), mantendo-a por 10 minutos.

O ensaio também foi realizado sem amostradores (com brancos) possibilitando a análise de contaminações por parte dos recipientes (vasos de digestão por microondas e *Digitubes*).

2.3.4.1 Preparação dos Amostradores

Previamente à execução das digestões, os amostradores DGT foram expostos a uma matriz de água com um teor de metais conhecido.

Numa primeira fase, utilizou-se água ultrapura ajustando o pH e a força iónica. Contudo, por não ser uma solução tamponada, o pH variava demasiado. Assim, passou a ser utilizada água de torneira, que foi analisada por ICP-OES, garantindo que a sua força iónica era adequada ao uso de amostradores DGT.

De forma a evitar a saturação da resina, estimou-se a concentração a que esta ocorreria ao fim de 15 dias. A resina Chelex-100 tem um diâmetro de 2,5 cm, uma espessura de 0,1mm e capacidade de 0,4 meq/mL¹²³. Com base nestes dados, adicionei à água 80µg/L de Ag, Cd, Co, Cu, Mn, Ni, Pb, Zn, Sr, Al, Cr, Fe, U, Mo, V, Be, Sn, Sb, Tl e Se.

Foram utilizados dois jerricãs de polipropileno (10L), num colocaram-se oito DGT-Me, visíveis na figura 2.13, o outro serviu apenas como controlo. O pH da água foi acertado para 7 com NaOH a 5N e os jerricãs foram colocados numa estufa a 20°C, como se observa na figura 2.14, apenas o jerricã com amostradores pôde ficar sob agitação (70 rpm) devido à falta de espaço dentro da estufa.



Figura 2.13 - Os oito amostradores DGT presos por nylon a um suporte.

Diariamente, registou-se a temperatura e o pH da solução, medidos através de um potenciómetro portátil, tendo-se colectado amostras de 20 mL de cada jerricã, de forma a traçar um gráfico da concentração de metais ao longo do tempo. Escolheu-se fazer uma recolha de volume diminuto devido à dimensão dos recipientes e ao facto de a solução não ser reposta ao longo dos 15 dias. No total foram retirados 140 mL, um volume presumivelmente desprezável para recipientes de 10L.

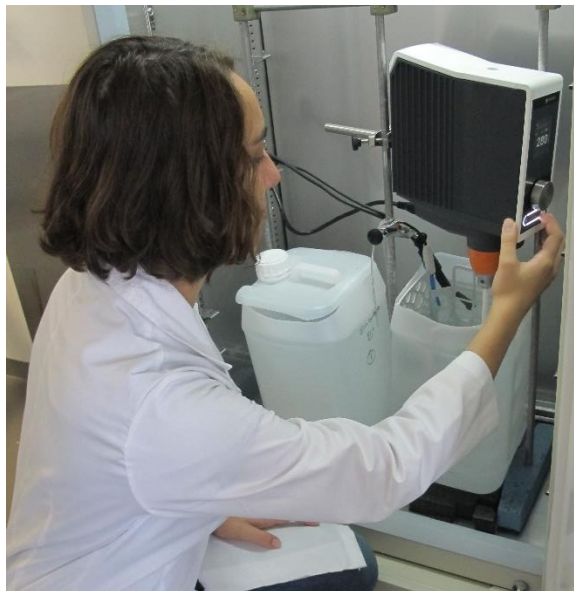


Figura 2.14 - Montagem do ensaio na estufa.

A quatro dos amostradores foi aplicada digestão por microondas e aos restantes quatro digestão por placa de aquecimento. Os cálculos necessários para determinar a concentração de metais foram realizados com os coeficientes de difusão indicados pelo fornecedor, disponíveis para consulta no anexo I.

2.3.4.2 Digestão por Placa de Aquecimento

Foi utilizada uma placa de aquecimento *DigiPREP MS* da *SCP Science* equipada com sensor de temperatura, sensor de volume e *software* próprio.

Utilizou-se 10 mL de água com ácido nítrico a 10% e tapei os *DigiTubes* com tampas para evitar perdas, num sistema de aquecimento em bloco.

Após cada digestão o conteúdo dos recipientes foi transferido para balões volumétricos de 50mL de PFA onde o padrão interno foi adicionado para leitura por ICP-MS, perfazendo-se o restante volume com água ultrapura.

2.3.4.3 Digestão por Digestor Microondas

As digestões por microondas foram realizadas num digestor por microondas da marca *Milestone* modelo ETHOS PLUS com um controlador *Terminal 260*, um sensor de temperatura *ATC 400* e um *software easyCONTROL-280* da *Milestone*.

No interior do digestor encontrava-se um rotor *HPR-1000/10S* da *Milestone* para 10 amostras a pressões até 100 bar, constituído por um prato superior de segurança, nove segmentos para vasos de digestão e um segmento para vaso de digestão de referência ¹²⁴. Na digestão por microondas foram sempre utilizados 10 vasos numerados, que devem ser devidamente lavados e pesados antes e após a digestão para garantir que as perdas ocorridas durante o processo são desprezáveis. A sonda de temperatura foi colocada no vaso de digestão 1.

A digestão em microondas requer um volume mínimo de 10 mL para garantir a monitorização correcta da temperatura; foi utilizada uma solução de 20mL de HNO_3 a 10% ao qual era adicionado 1mL de H_2O_2 .

Após pesagem, os vasos eram fixados ao rotor por parafusos apertados com uma chave dinamométrica, cuja força é uniforme para todos os vasos. No segmento de referência colocou-se uma amostra aleatória, de forma a realizar o controlo de temperatura. Após cada digestão esperou-se que as amostras arrefecessem até pelo menos 40°C e só depois se removeram os vasos do rotor, evitando a expansão do conteúdo e a sua projecção devido à pressão. Realizaram-se novas pesagens para avaliar as perdas ocorridas durante o processo. Posteriormente 60 mL do conteúdo do balão foram transferidos para frascos de polipropileno de forma a serem armazenados até à análise. Só após a leitura por ICP-MS se realizaram as análises por ICP-OES.

2.3.5 Determinação dos coeficientes de difusão

Os coeficientes de difusão utilizados neste trabalho para o cálculo da concentração de metais a partir dos DGT apenas se aplicam aos iões metálicos livres. Foram fornecidos pela *Exposmeter AB*, o vencedor de amostradores passivos (de 1°C a 35°C), outros foram obtidos na literatura e alguns foram calculados no âmbito deste estudo.

De forma a testar o funcionamento em laboratório dos amostradores passivos (previamente à sua utilização em matrizes reais e cálculo dos coeficientes de difusão em condições controladas) foi desenvolvido um ensaio de longa duração mimetizando as condições de rio ou albufeira (fluxo, temperatura, reposição de metais e período de exposição dos dispositivos).

Foi utilizado o seguinte material:

- dois jerricãs de 20L de polipropileno;
- duas placas de agitação;
- dois agitadores magnéticos;
- uma caixa de 16L de polipropileno;
- um agitador mecânico da *Heidolph*;
- um suporte rotativo de ABS;
- um banho termostaticado;
- uma bomba peristáltica *Scalar*®;
- um potenciômetro (medidor de pH portátil) e sonda de temperatura com indicador digital do fabricante *WTW*;

- 6 tubos de polietileno da Scalar® com calibre 1,5 mm, correspondente a um fluxo de 0,0025L/min.;

Montou-se o equipamento de acordo com o esquema figura 2.15 A).

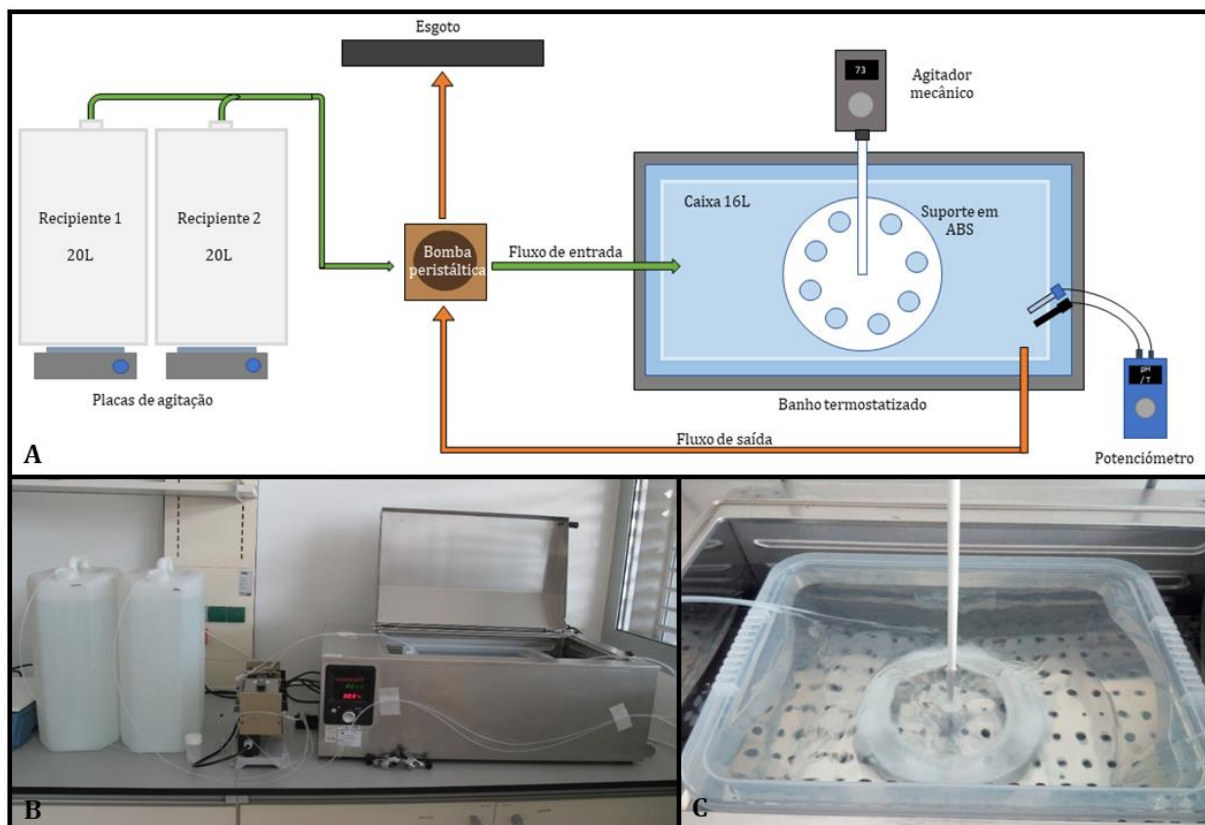


Figura 2.15 - A) esquema da montagem de material utilizado para simulação das condições de uma matriz real; B) montagem do material; C) suporte em rotação para estabilização da solução.

A solução que serviu como matriz foi composta por água da torneira reforçada com metais – tabela 2.6. Previamente ao reforço a água foi analisada por ICP-OES e ICP-MS permitindo avaliar a sua força iônica e correções necessárias.

Tabela 2.6 -Concentrações de metais adicionados à água de torneira.

Concentração Adicionada	Metais
3 µg/L	Be, Cr, Co, Ni, Cu, As, Mo, Cd, Sb, Sr, Tl, U
5 µg/L	V, Se, Pb, Ag
Sem Adição	Li, Al, Mn, Ba, Na, B, Ca, Fe, K, Mg, Zn

A bomba peristáltica utilizada não permitia regular a sua velocidade. Pretendia-se que ocorresse uma renovação diária de pelo menos 50% da matriz presente na caixa de 16 L, ou seja, era necessário garantir um fluxo mínimo de 5,6 mL/min. Com esse intuito, foram utilizados três tubos de entrada e três tubos de saída de água. Procedeu-se à medição de fluxo recorrendo a um cronómetro ($\pm 0,01$ s) e a

uma proveta de $50 \pm 0,5$ mL, registando-se 5,7 mL/min e garantindo a substituição de, aproximadamente, 51% do conteúdo da caixa ao fim de 24h.

Os jerricãs de 20L foram descontaminados previamente à sua utilização. A agitação da solução no seu interior foi garantida através de agitadores magnéticos e de placas de agitação.

Durante a semana apenas um dos recipientes se encontrava ligado ao restante aparato, o outro teria a solução reposta e ficaria em estabilização até ser necessário realizar a troca. Ao fim-de-semana ambos os recipientes teriam de servir de fonte de matriz, caso contrário, a renovação de pelo menos 50% do volume da água em contacto com os amostradores não poderia ser garantida.

O fluxo da solução na caixa de 16L foi garantido pelo agitador mecânico a uma velocidade de 70 rpm, equivalente a 66 cm.s^{-1} .

Globalmente, foram executados quatro ensaios, entre os quais apenas diferiu a temperatura do banho termostaticado. Em todos tentou-se replicar a matriz, o pH e o fluxo da mesma. As temperaturas testadas foram 13°C, 15°C, 20°C e 25°C.

O pH da solução foi verificado e ajustado (com NaOH 1M e HNO₃ a 10%) diariamente entre 4 e 6. A temperatura foi medida através da sonda do potenciómetro. Os registos de pH e temperatura encontram-se no anexo IV.

A tubagem foi substituída periodicamente ao longo de todo o ensaio de forma a garantir uma boa qualidade do fluxo.

2.3.5.1 Cálculo dos coeficientes de difusão

O cálculo dos coeficientes de difusão experimentais foi efectuado através da equação (21):

$$D = \frac{M\Delta g}{CA\tau} \quad (21)$$

Assumiu-se que a média de amostras pontuais da montagem laboratorial correspondia à concentração de metais na matriz (água reforçada), ou seja, C , sendo M o valor obtido pelos amostradores DGT. Calculou-se a média do coeficiente de difusão, D , para cada temperatura.

Utilizando a equação (22) ⁴⁴, foi obtida a recta que permitiu estimar os valores dos coeficientes de difusão em função da temperatura.

$$\log D_T = \left[\frac{(1,37023(T - 25) + 8,36 \times 10^{-4}(T - 25)^2)}{109 + T} \right] + \log \left(\frac{D_{25}(273 + T)}{298} \right) \quad (22)$$

D_T é o coeficiente de difusão da temperatura pretendida, e D_{25} é o coeficiente de difusão a 25°C. Os coeficientes obtidos foram utilizados para o cálculo da concentração de metais na montagem laboratorial, no Reservatório dos Olivais e na ETA e albufeira de Santa Águeda.

2.4 Amostragem Pontual

À excepção da albufeira e ETA de Santa Águeda, toda a amostragem pontual foi realizada diariamente, com excepção dos fins-de-semana. Utilizaram-se recipientes próprios para a recolha, de acordo com o tipo de análise a ser efectuada, devidamente descontaminados.

2.4.1 Montagem laboratorial

Em todos os ensaios foi retirada uma amostra pontual antes dos amostradores passivos entrarem em contacto com a matriz. No primeiro ensaio, realizado a 15 °C, foram apenas recolhidos 40 mL de água diariamente da caixa de 16L. No entanto, o volume recolhido foi alterado para 60 mL nos restantes ensaios (T= 13 °C, 20 °C, 25 °C). Destes, 30 mL seguiram para análise de metais totais e 30 mL foram filtrados e seguiram para análise de metais dissolvidos, em ICP-MS e ICP-OES.

2.4.2 Reservatório dos Olivais

A colheita de amostras pontuais foi realizada num ponto localizado o mais perto possível dos amostradores, durante o período de exposição dos mesmos.

As amostragens pontuais realizadas diariamente no reservatório dos Olivais, além de serem analisadas por ICP-OES e ICP-MS, foram também analisadas por cromatografia e potenciometria. Todas as amostras foram preservadas com HNO₃ a 0,5%, para a análise de metais.

2.4.3 Albufeira e ETA de Santa Águeda

Devido à distância ao Laboratório Central da EPAL, a logística de amostragem pontual na albufeira e na ETA de Santa Águeda era mais complicada do que nos restantes locais. Ao todo foram apenas recolhidas três amostras pontuais, uma no dia de colocação dos amostradores passivos, outra a meio da amostragem, ao fim de 7 dias, e a última no dia de retirada dos dispositivos.

2.4.4 Filtração de amostras

Parte das amostras recolhidas manualmente no laboratório, no reservatório dos Olivais da EPAL, na albufeira de Santa Águeda e na Estação de Tratamento de Água de Santa Águeda, foram filtradas de forma a poderem ser comparadas com os resultados obtidos por DGT. Para esse fim, foi utilizado um sistema analítico da *SCP Science* composto por ¹⁰⁰:

- Rampa de filtração *DigiFILTER Manifold* com 10 posições
- Bomba de vácuo
- Filtros de *Teflon* de 0,45 µm
- *Digitubes* de filtração de 50mL

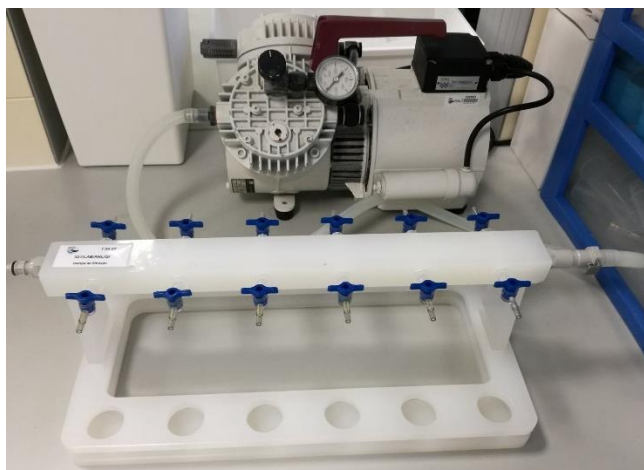


Figura 2.16 - Sistema de filtração de amostras.

2.5 Determinação dos limites analíticos

O ICP-MS e o ICP-OES dão indicação do sinal obtido para os diferentes metais, os quais, neste caso, mostraram-se indistinguíveis do ruído de fundo. Sabido o valor da sensibilidade para cada metal no dia de análise (obtida através de estudos prévios de calibração do instrumento), disponível no anexo IV, calcularam-se as concentrações de metais, segundo a equação (23).

$$C_{brancos} = \frac{\text{sinal}}{\text{sensibilidade}} \quad (23)$$

Os limites de detecção e de quantificação da metodologia foram determinados recorrendo às concentrações de metais após digestão de brancos (água ultrapura com ácido nítrico a 10% e peróxido de hidrogénio) por microondas e por placa de aquecimento.

Seguidamente, encontram-se descritos os cálculos utilizados para determinação dos limites analíticos.

Estimativa do Limite de Detecção e Quantificação da Metodologia com Base em Brancos

O limite de detecção foi determinado segundo a equação (24).

$$LD = \bar{X}_{brancos} + 3s_{brancos} \quad (24)$$

Onde $\bar{X}_{brancos}$ é a média das concentrações de metais e $s_{brancos}$ é o desvio-padrão das mesmas. O limite de quantificação foi determinado pela equação (25).

$$LQ = \bar{X}_{brancos} + 10s_{brancos} \quad (25)$$

Estimativa do Limite de Detecção e Quantificação da Metodologia com Base num Padrão

O padrão utilizado para esta estimativa corresponde ao valor expectável do limite de quantificação instrumental. Pressupondo que os valores experimentais seguem uma distribuição normal reduzida, uma vez que foi realizado um número elevado de ensaios, utilizou-se a equação (26).

$$LD = k \cdot s_{padrão} \quad (26)$$

Em que $s_{padrão}$ é o desvio padrão de n leituras de concentração do padrão e k é o factor estatístico para uma dada probabilidade. Este último foi definido pressupondo uma probabilidade de 5% para a aceitação de um falso positivo e rejeição de um positivo ¹⁰⁸. O que corresponde a

$$LD = 3 \cdot s_{padrão} \quad (27)$$

e

$$LQ = 10 \cdot s_{padrão} \quad (28)$$

Foi realizada uma avaliação para determinar a gama de trabalho. Se o limite de quantificação (LQ) da metodologia fosse menor do que a concentração do primeiro ponto da recta de calibração do ICP-MS (método para águas de consumo humano), então o valor mantinha-se, caso contrário, verificava-se se o valor de LQ era menor do que o 2º padrão, se nenhuma das condições se verificasse era atribuído um valor maior. Os restantes pontos da recta de calibração foram calculados mantendo a proporção utilizada pela EPAL.

Os testes estatísticos para a eliminação de *outliers* usados neste trabalho foram o de Cochran e de Grubb's, descritos na ISO-5725-2. Todos os cálculos de média foram calculados segundo a equação (29) e de desvio-padrão foram efectuados de acordo com a equação (30).

Média

$$\bar{y} = \frac{1}{n} \sum_{k=1}^n y_k \quad (29)$$

Desvio-padrão

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{k=1}^n (y_k - \bar{y})^2} \quad (30)$$

2.6 Análise de metais

2.6.1 Análise por ICP-MS

Tal como a figura 2.17 ilustra, foi usado um espectrómetro de massa com plasma indutivo acoplado *Thermo X series II* com uma bomba de vácuo *Edwards 28*, um amostrador automático *CETAC ASX-520*. Para aquisição de dados usou-se um computador com software de controlo *PlasmaLab™*. Nas

medições por ICP-MS foi sempre seguido o método de águas para consumo humano usado pela EPAL apenas com ligeiras alterações.

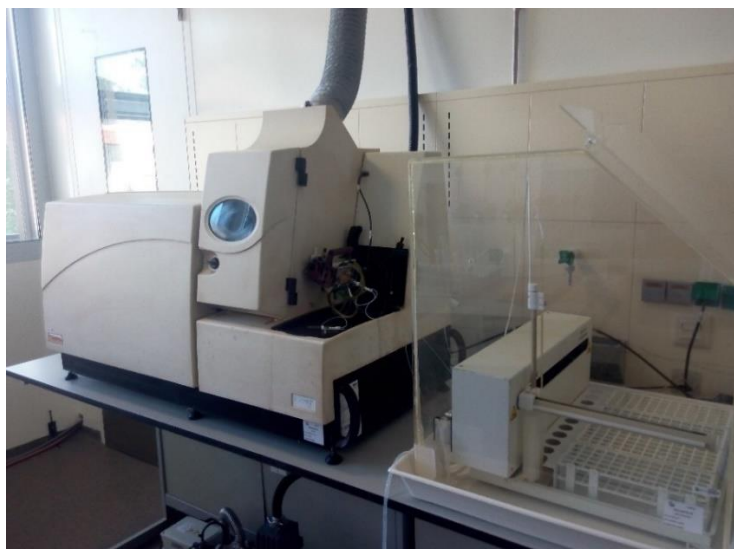


Figura 2.17 - Equipamento de ICP-MS, Thermo Series II, e amostrador automático, instalados no Laboratório Central da EPAL.

Utilizou-se um nebulizador concêntrico para a introdução de amostra, representado na figura 2.18. Este tipo de nebulizador é mais adequado para soluções com pequenas quantidades de matéria dissolvida.



Figura 2.18 - Nebulizador concêntrico¹²⁵.

Na tabela 2.7 encontram-se os parâmetros instrumentais e na tabela 2.8 as equações de correcção utilizadas devido às interferências desta técnica.

Tabela 2.7 - Parâmetros instrumentais utilizados durante as medições por ICP-MS ¹⁰⁹.

Parâmetro	Valor	Unidade
Uptake	45	Segundos
Washout	120	Segundos
Channels	1	-
Sweeps	80	-
Nº de réplicas	3	-
Tempo de estabilização mínimo	1,5 a 2,0	Horas
Velocidade da bomba	35	%

Tabela 2.8 - Parâmetros e equações de correção utilizadas para cada isótopo analisado ¹⁰⁹.

Massa	Dwell Time (ms)	Padrão Interno	Equações de Correção
⁵ Bkg	10	-	-
⁷ Li	10	¹¹⁵ In	-
⁹ Be	20	⁸⁹ Y	-
²⁷ Al	10	⁸⁹ Y	-
⁴³ Ca	10	⁸⁹ Y	-
⁵¹ V	10	⁸⁹ Y	$^{51}\text{V} + 3,0368 \times ^{37}\text{Cl}^{16}\text{O}$ $^{53}\text{M} - 0,114 \times ^{52}\text{Cr}$
⁵² Cr	10	⁸⁹ Y	-
³⁵ Cl ¹⁶ O	10	⁸⁹ Y	-
⁵⁵ Mn	10	⁸⁹ Y	$^{55}\text{Mn} + 0,00028 \times ^{43}\text{Ca}$
⁵⁹ Co	10	⁸⁹ Y	$^{59}\text{Co} + 0,00052 \times ^{43}\text{Ca}$
⁶⁰ Ni		⁸⁹ Y	
⁶² Ni	100	⁸⁹ Y	-
⁶⁵ Cu	10	⁸⁹ Y	-
⁶⁶ Zn	10	⁸⁹ Y	-
⁷⁵ As	100	¹¹⁵ In	$^{75}\text{As} + 2,3079 \times ^{40}\text{Ar}^{37}\text{Cl}$ $^{77}\text{M} - 0,7427 \times ^{82}\text{Se}$ $- 1,0010 \times ^{83}\text{Kr}$
⁴⁰ Ar ³⁷ Cl	50	¹¹⁵ In	-
⁸² Se	100	¹¹⁵ In	$^{82}\text{Se} - 1,0010 \times ^{83}\text{Kr}$
⁸³ Kr	10	¹¹⁵ In	-
⁸⁷ Sr		⁸⁹ Y	
⁸⁹ Y	10	-	-
⁹⁵ Mo	20	⁸⁹ Y	-
¹⁰⁷ Ag	10	¹¹⁵ In	-
¹¹¹ Cd	20	¹¹⁵ In	-
¹¹⁵ In	10	-	$^{115}\text{In} - 0,01400 \times ^{118}\text{Sn}$
¹¹⁸ Sn	10	¹¹⁵ In	-
¹²¹ Sb	10	¹¹⁵ In	-
¹³⁷ Ba	10	¹¹⁵ In	-
²⁰⁵ Tl	10	²⁰⁹ Bi	-
²⁰⁶ Pb	10	²⁰⁹ Bi	-
²⁰⁷ Pb	10	²⁰⁹ Bi	-
²⁰⁸ Pb	10	²⁰⁹ Bi	$1,00 \times ^{206}\text{Pb} + 1,00 \times ^{207}\text{Pb}$
²⁰⁹ Bi	10	-	-
²²⁰ Bkg	10	-	-
²³⁸ U	10	²⁰⁹ Bi	-

Os materiais mais usados para a análise de metais vestigiais são o polietileno, o polipropileno e polímeros fluorinados ¹⁰³. Para a preparação de soluções de padrão e amostras usaram-se balões volumétricos e cuvetes de *perfluoroalkoxy-fluorocarbon* (PFA) que se encontram segregados dos restantes materiais do laboratório.

Sequência analítica do ICP-MS

Todas as leituras foram efectuadas em triplicado. Após a primeira recta de calibração procedeu-se à leitura do primeiro ponto da recta, de forma a validar o limite de quantificação, e entre cada calibração, além dos controlos de qualidade, não foram lidas mais de 10 a 12 amostras. Durante o procedimento foi seguida a sequência analítica da figura 2.19.



Figura 2.19 - Sequência analítica do ICP-MS; **PC** – Padrão de Controlo; **MRC** – Material de Referência Certificado.

Esta sequência foi aplicada sucessivamente, até ao final da leitura de todas as amostras, altura em que se realizaram várias leituras de água ultrapura para limpeza do sistema e do equipamento.

2.6.1.1 Controlo de Qualidade

Critério de aceitação do branco

O controlo do branco foi avaliado em concentração e não em contagens de isótopos, uma vez que estas dependem da sensibilidade diária do ICP-MS. Se o valor absoluto do branco fosse inferior ou igual ao limite de deteção, era garantido que fosse três vezes inferior à concentração do primeiro ponto da recta de calibração, pelo que foi aceite ¹⁰⁹.

Critério de aceitação da recta de calibração

Para a recta de calibração ser aceite, o coeficiente de correlação deveria ter um valor superior a 0,9995. As rectas de calibração foram traçadas recorrendo a seis padrões, tendo sido desprezados no máximo dois pontos para se obterem melhores valores de coeficientes de correlação ¹⁰⁹.

Critério de aceitação de RSD%

O desvio-padrão relativo das três réplicas de cada leitura foi igual ou inferior a 10% para concentrações até ao terceiro ponto da recta de calibração e igual ou inferior a 5% para concentrações superiores, excepto na medição de ⁹Be, ⁵¹V e ⁷⁵As, para os quais foi igual ou inferior a 15%, tendo sido de 10% para ⁸²Se. Sempre que esta condição não foi cumprida desprezou-se uma das réplicas ¹⁰⁹.

Critério de aceitação para o padrão de controlo

A solução padrão de controlo foi lida periodicamente após as rectas de calibração, validando a referência analítica e controlando as flutuações do equipamento. Os critérios de aceitação são definidos

com base numa carta de controlo cujos valores das linhas de controlo não podem ser superiores à incerteza expandida do valor da concentração da solução padrão de controlo.

Se o resultado se encontrava dentro dos critérios ou se, após a leitura da solução padrão de controlo (PC), o material de referência certificado (MRC) 23.4 obtivesse resultados satisfatórios as amostras eram validadas ¹⁰⁹.

2.6.2 Análise por ICP-OES

Foi utilizado um espectrómetro óptico radial e/ou axial de emissão com plasma indutivo acoplado, *ICAP 6000 series*, equipado com um *Cooler Nestlab ThermoFlex 900* da *Thermo Scientific*, na figura 2.20, tendo sido utilizados os parâmetros descritos na tabela 2.9. Usou-se um amostrador automático *CETAC ASX 520* e um computador com o software *ITEVA* da *Thermo Elemental* para aquisição e tratamento de dados.



Figura 2.20 - Equipamento de ICP-OES, ICAP 6000 series da *Thermo Elemental*, e amostrador automático instalado no Laboratório Central da EPAL.

Tabela 2.9 - Parâmetros utilizados no ICP-OES ¹⁰⁰.

Parâmetro	Valor	Unidade
Fluxo auxiliar	0,6	L/min
Pressão do nebulizador	0,6	L/min
Potência da radiofrequência	1200	W
Velocidade da bomba peristáltica	40	rpm
Tempo de integração no ultravioleta (low)	Radial: 30 Axial: 10	Segundos
Tempo de integração no visível (high)		
Tempo de lavagem	45	
<i>Uptake</i>	20	

Esta técnica foi utilizada para a detecção de alumínio, zinco e ferro, cuja concentração era mais elevada, sendo também a técnica utilizada em rotina pela EPAL. Os restantes metais foram analisados recorrendo a ICP-MS.

Sequência analítica do ICP-OES

À semelhança das leituras efectuadas em ICP-MS, todas as medições foram realizadas em triplicado; após a calibração, o ponto de menor concentração da recta de calibração foi verificado, de forma a confirmar o valor de LQ. A sequência analítica utilizada corresponde à figura 2.21.



Figura 2.21 - Sequência analítica do ICP-OES; **PC** – Padrão de Controlo.

2.6.2.1 Controlo de Qualidade

O controlo de qualidade para o ICP-OES aplicou critérios de aceitação do branco, da recta de calibração, do RSD% e da solução padrão de controlo idênticos aos critérios anteriormente descritos para a medição por ICP-MS.

2.7 Lavagem e Limpeza do Material

A lavagem de material seguiu, sempre que possível, o protocolo da EPAL¹²⁶. O material utilizado para a preparação de soluções foi descontaminado da seguinte forma:

- Lavagem, três vezes, com água ultrapura;
- Passagem por H₂O₂ a 30%;
- Passagem por HNO₃ bidestilado;
- Lavagem, três vezes, com água ultrapura;
- Descontaminação com HNO₃ bidestilado a 10% durante 3 dias.

Após o procedimento acima descrito, os vasos utilizados durante a digestão por microondas tiveram a particularidade de ser descontaminados durante um programa de digestão de microondas prévio à análise das amostras.

Sempre que um material foi colocado a uso, o meio ácido era despejado e passava-se três vezes por água ultrapura. Excepção feita às cuvets para leitura no ICP-MS que foram colocadas a uso imediatamente após despejo da solução ácida.

2.8 Análise de Incertezas

Uma vez que parte deste trabalho consistiu na aplicação de um novo método de eluição dos metais da resina dos amostradores passivos e subsequente análise por ICP, o cálculo das incertezas foi baseado na abordagem passo a passo.

O diagrama de *Ishikawa*, na figura 2.22, ilustra as várias fontes de incerteza associadas ao cálculo da concentração de metais captados via amostradores DGT.

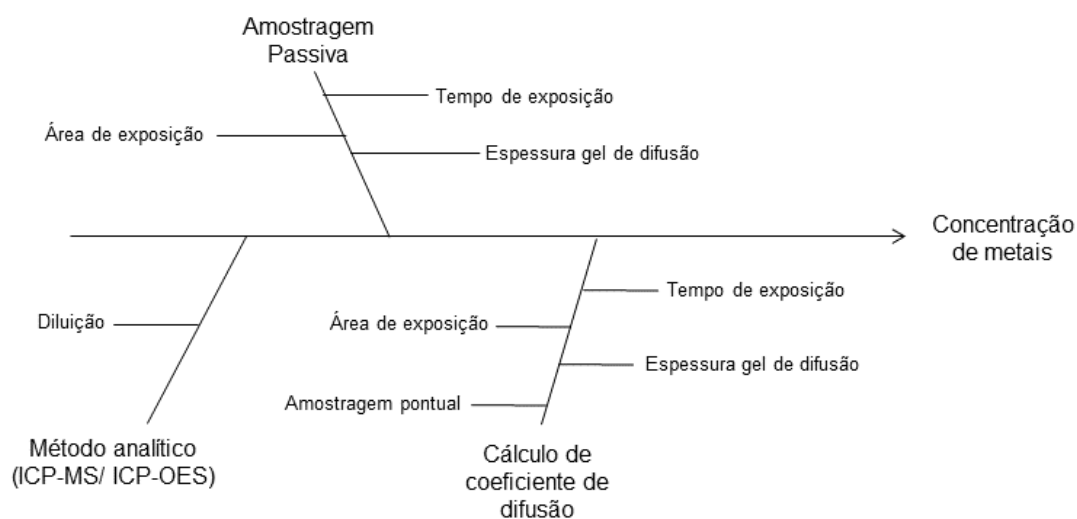


Figura 2.22 - Diagrama de *Ishikawa*, que ilustra a influência das várias fontes de incerteza na concentração de metais obtida pela amostragem via DGT e análise em ICP.

Efectuou-se o cálculo da incerteza expandida com base na equação (19), e da incerteza combinada de acordo com a equação (31), para cada um dos metais recolhidos por amostragem passiva nas matrizes reais.

$$u_c(C) = \sqrt{u(M)^2 + u(t)^2 + u(A)^2 + u(\Delta g)^2 + u(D)^2} \quad (31)$$

As incertezas associadas à área de exposição $u(A)$ e à espessura do gel de difusão $u(\Delta g)$ foram calculadas com base no erro de leitura associado à craveira utilizada para a sua determinação. A incerteza associada ao tempo de exposição $u(t)$ teve por base um erro de $\pm 60s$, uma vez que foi utilizado um relógio analógico para a sua medição. A incerteza associada aos métodos analíticos, $u(M)$, já estavam definidas pela EPAL para cada metal. Considerou-se que o erro dos balões volumétricos e das micropipetas utilizados na preparação eram desprezáveis.

A incerteza expandida associada à amostragem pontual foi calculada com base na incerteza dada pela equação (20), através da estimativa da variância da média.

A incerteza geralmente é reportada na sua forma relativa, como desvio-padrão relativo ou intervalo de percentagem ^{109,119}.

3 Resultados e Discussão

A implementação e validação de um método analítico envolve a optimização das condições de trabalho e o recurso a ensaios de validação.

O estudo envolveu a aplicabilidade e eficácia dos amostradores passivos. Testou-se primeiramente o seu funcionamento, através de ensaios laboratoriais que simulassem o meio aquático antes de efectuar o estudo real.

3.1 Avaliação da influência do suporte dos amostradores passivos

Foi efectuado o estudo comparativo dos polímeros PLA (ácido polilático) e ABS (acrilonitrilo butadieno estireno) de modo a avaliar a sua utilização como suporte dos amostradores passivos.

Este estudo envolveu as matrizes aquosas:

Água de controlo (água 1) – Água ultrapura acidificada com ácido nítrico que não esteve exposta a nenhum polímero e à qual foram adicionados metais (controlo de qualidade).

Água após exposição a PLA (água 2) – Água ultrapura acidificada com ácido nítrico, após exposição do polímero PLA à qual foram adicionados metais.

Água após exposição a ABS (água 3) - Água ultrapura acidificada com ácido nítrico, após exposição do polímero ABS à qual foram adicionados metais.

A tabela 3.1 apresenta os resultados respeitantes ao teor em metais na água 1 e água 2.

Tabela 3.1 - Comparação da concentração média de metais na água de controlo (água 1) e água após exposição ao polímero de PLA (água 2).

Metais	Parâmetros		
	Teor adicionado (µg/L)	Água 1 (µg/L)	Água 2 (µg/L)
⁷ Li	0,30	0,24	0,28
⁹ Be	0,15	0,14	0,16
²⁷ Al	1,50	0,96	4,75
⁵¹ V	0,30	0,25	0,30
⁵² Cr	0,30	0,26	1,02
⁵⁵ Mn	0,15	0,09	4,47
⁵⁹ Co	0,15	0,12	0,21
⁶⁰ Ni	0,30	0,25	1,25
⁶² Ni	0,30	0,25	1,25
⁶⁵ Cu	0,30	0,26	2,26
⁶⁶ Zn	1,20	1,52	15,77
⁷⁵ As	0,15	0,15	0,24
⁸² Se	0,60	0,63	0,77

⁹⁵ Mo	0,15	0,12	0,16
¹⁰⁷ Ag	0,15	0,13	0,17
¹¹¹ Cd	0,15	0,14	0,18
¹¹⁸ Sn	0,15	0,12	0,38
¹²¹ Sb	0,15	0,15	0,20
¹³⁷ Ba	0,30	0,25	0,89
²⁰⁵ Tl	0,15	0,12	0,14
²⁰⁸ Pb	0,15	0,12	0,90
²³⁸ U	15,0	11,67	13,40

A comparação entre o teor de metais adicionado e a água 2 permite verificar que existem contaminações devidas ao polímero PLA. Como se pode observar na tabela 3.1, existiu libertação de diversos metais para a água utilizada; nomeadamente alumínio, crómio, manganês, níquel, cobre, zinco, estanho, bário e chumbo.

Simultaneamente, realizou-se um ensaio semelhante com o polímero ABS. Os resultados encontram-se na tabela 3.2.

Tabela 3.2 - Comparação da concentração média de metais na água de controlo (água 1) e na água após exposição ao polímero de ABS (água 3).

Metais	Parâmetros		
	Teor Adicionado (µg/L)	Água 1 (µg/L)	Água 3 (µg/L)
⁷ Li	0,30	0,33	0,48
⁹ Be	0,15	0,14	0,15
²⁷ Al	1,50	6,64	16,27
⁵¹ V	0,30	0,28	0,32
⁵² Cr	0,30	0,25	0,29
⁵⁵ Mn	0,15	0,17	0,26
⁵⁹ Co	0,15	0,15	0,17
⁶⁰ Ni	0,30	0,31	0,49
⁶² Ni	0,30	0,31	0,47
⁶⁵ Cu	0,30	0,33	0,52
⁶⁶ Zn	1,20	20,5	63,0
⁷⁵ As	0,15	0,15	0,16
⁸² Se	0,60	0,64	0,66
⁹⁵ Mo	0,15	0,14	0,15
¹⁰⁷ Ag	0,15	0,13	0,13
¹¹¹ Cd	0,15	0,15	0,17
¹¹⁸ Sn	0,15	0,14	0,14

¹²¹ Sb	0,15	0,14	0,15
¹³⁷ Ba	0,30	0,33	0,47
²⁰⁵ Tl	0,15	0,14	0,15
²⁰⁸ Pb	0,15	0,16	0,21
²³⁸ U	15,0	14,2	14,1

Como se pode concluir pela tabela 3.2, o polímero ABS não absorveu nem libertou metais, de forma significativa, para a água 3. Observaram-se valores demasiado elevados para o alumínio e o zinco, indicadores de uma contaminação não identificada.

Tendo em conta estes resultados, foi seleccionado o polímero ABS; foi este o polímero utilizado para construir, através das impressões 3D, o suporte dos amostradores passivos testados. Estes resultados foram igualmente tidos em conta para o invólucro dos amostradores passivos DGT constituídos por este material (ABS).

3.2 Escolha do método de extracção

A escolha do melhor método de extracção dos metais foi baseada em dois tipos de ensaios. O amostrador passivo DGT (sem suporte) foi colocado em água ultrapura à qual foi adicionada ácido nítrico, tendo sido efectuadas a digestão em placa de aquecimento e em digestor por microondas. Foram também realizados estudos sem amostrador - brancos. O estudo envolveu as matrizes aquosas:

Brancos – Água ultrapura acidificada com ácido nítrico e peróxido de hidrogénio cuja digestão foi efectuada por placa de aquecimento ou por digestor por microondas.

Água após exposição do DGT – água ultrapura, acidificada com ácido nítrico e peróxido de hidrogénio, exposta a um amostrador DGT.

Água de extracção – água ultrapura, acidificada com ácido nítrico e peróxido de hidrogénio, utilizada durante a extracção de metais dos amostradores passivos.

Durante o estudo de brancos, utilizou-se a equação (25) da secção 2.5 para calcular o limite de quantificação (LQ).

A tabela 3.3. descreve os resultados obtidos para o limite de quantificação da digestão em placa de aquecimento e em digestor por microondas, o teor de metais na água após exposição a um amostrador DGT e o limite de quantificação instrumental em ICP-MS.

Tabela 3.3 – Comparação do limite de quantificação utilizando brancos, e o teor de metais em água exposta a um amostrador passivo com o limite de quantificação instrumental.

Metais	LQ do estudo de brancos* (µg/L)		Água após exposição do DGT** (µg/L)		LQ Instrumental (µg/L)
	M†	PA††	M†	PA††	
⁷ Li	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1
⁹ Be	0,03	0,03	0,01	0,01	0,05
²⁷ Al	3,3	2,6	1,0	0,8	0,5
⁵¹ V	0,0	0,3	0,0	0,0	0,1
⁵² Cr	0,3	1,0	0,2	0,1	0,1
⁵⁵ Mn	0,12	0,20	0,02	0,01	0,05
⁵⁹ Co	0,03	0,05	0,00	0,01	0,05
⁶⁰ Ni	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
⁶² Ni	0,2	0,3	0,1	0,1	0,1
⁶⁵ Cu	0,2	0,3	0,1	0,1	0,1
⁶⁶ Zn	1,6	0,8	1,0	1,1	0,4
⁷⁵ As	0,03	0,12	0,01	0,00	0,05
⁸² Se	0,3	0,2	0,0	0,0	0,2
⁸⁸ Sr	0,01	0,02	0,04	0,07	0,05
⁹⁵ Mo	0,03	0,05	0,00	0,01	0,05
¹⁰⁷ Ag	0,03	0,04	0,01	0,00	0,05
¹¹¹ Cd	0,02	0,04	0,00	0,00	0,05
¹¹⁸ Sn	0,24	0,37	0,07	0,07	0,05
¹²¹ Sb	0,03	0,01	0,00	0,00	0,05
¹³⁷ Ba	0,1	0,2	0,4	0,9	0,1
²⁰⁵ Tl	0,01	0,007	0,00	0,00	0,05
²⁰⁸ Pb	0,03	0,06	0,03	0,02	0,05
²³⁸ U	0,01	0,01	0,00	0,00	0,05

*LQ do estudo de brancos – Limite de quantificação calculado com base no estudo de brancos. **Água após exposição do DGT – Água ultrapura acidificada exposta a um amostrador DGT.

†M – Digestão por microondas. ††PA – Digestão por placa de aquecimento.

Tendo em conta os valores obtidos, o limite de quantificação da digestão em placa de aquecimento e em digestor por microondas para a maioria dos metais é menor, igual ou não muito superior ao limite de quantificação instrumental. Além disso, todos os metais apresentam um teor abaixo do limite de quantificação instrumental na água exposta a um amostrador DGT, à excepção do Al, Zn e Ba.

O estudo comparativo das águas de extracção dos amostradores passivos, após digestão por placa de aquecimento e digestão por microondas, encontra-se descrito na tabela 3.4.

Tabela 3.4 – Avaliação do melhor método de extracção de metais (digestão por placa de aquecimento vs digestão por microondas), na água de extracção de amostradores passivos.

Metais	PLACA DE AQUECIMENTO			MICROONDAS			Avaliação
	Média de concentração na água de extracção (µg/L)	Desvio-padrão (σ)	Desvio-padrão relativo (RSD%)	Média de concentração na água de extracção (µg/L)	Desvio-padrão (σ)	Desvio-padrão relativo (RSD%)	
⁷ Li	0,3	0,001	3,6%	0,3	0,0024	7,9%	PA
⁹ Be	9,8	0,629	64,4%	9,3	0,0917	9,8%	M
²⁷ Al	16,7	1,033	61,8%	15,4	0,1416	9,2%	M
⁵¹ V	1,0	0,078	78,5%	0,8	0,0061	7,4%	M
⁵² Cr	9,7	1,031	106,8%	6,0	0,0549	9,2%	M
⁵⁵ Mn	149,0	1,436	9,6%	156,4	0,5760	3,7%	M
⁵⁹ Co	177,8	3,201	18,0%	178,2	0,8022	4,5%	M
⁶⁰ Ni	179,0	3,249	18,2%	179,8	0,9399	5,2%	M
⁶² Ni	178,2	3,317	18,6%	178,7	0,8782	4,9%	M
⁶⁵ Cu	79,6	3,273	41,1%	61,4	0,9366	15,2%	M
⁶⁶ Zn	268,7	4,732	17,6%	340,1	10,5906	31,1%	PA
⁷⁵ As	3,7	0,416	111,6%	2,8	0,0970	34,7%	M
⁸² Se	0,4	0,025	68,1%	0,3	0,0041	12,4%	M
⁸⁸ Sr	6,2	0,108	17,6%	7,3	0,0549	7,5%	M
⁹⁵ Mo	0,2	0,004	17,5%	0,2	0,0008	3,6%	M
¹⁰⁷ Ag	75,9	0,598	7,9%	77,4	0,2943	3,8%	M
¹¹¹ Cd	160,2	2,946	18,4%	161,0	0,7673	4,8%	M
¹¹⁸ Sn	10,4	1,087	105,0%	7,3	0,0796	10,9%	M
¹²¹ Sb	0,2	0,007	32,1%	0,2	0,0008	3,3%	M
¹³⁷ Ba	5,6	0,073	13,1%	5,9	0,0268	4,6%	M
²⁰⁵ Tl	0,8	0,009	11,5%	0,9	0,0032	3,6%	M
²⁰⁸ Pb	32,0	1,094	34,2%	28,5	0,1615	5,7%	M
²³⁸ U	3,3	0,030	9,2%	3,0	0,0294	9,8%	PA

A diferença entre a concentração de metais obtida via digestão por placa de aquecimento e digestão por microondas, é insignificante para praticamente todos os metais, à excepção do Zn.

Observou-se que o desvio-padrão relativo (RSD%) foi inferior para a grande maioria dos metais analisados na digestão por microondas. Um RSD% menor indica uma menor dispersão de resultados e uma maior reprodutibilidade do método. Considerou-se assim a digestão por microondas como o melhor método de extracção de metais.

Realizou-se o cálculo da eficiência relativa da eluição com o intuito de comparar os dois métodos de extracção. Assim, utilizando a mediana da concentração de metais obtida através da digestão por microondas de amostradores DGT como valor de referência (100%), calculou-se a eficiência relativa da digestão por placa de aquecimento. Os resultados encontram-se descritos na tabela 3.5.

Tabela 3.5 - Eficiência relativa da extracção via digestão por placa de aquecimento, considerando a digestão de microondas como referência.

Metais	Mediana de concentração (µg/L)		Eficiência relativa de eluição (PA ^{††}) %	Avaliação
	Digestão por microondas	Digestão por placa de aquecimento		
⁷ Li	0,3	0,3	94	M[†]
⁹ Be	8,9	8,4	94	M[†]
²⁷ Al	15,3	13,4	87	M[†]
⁵¹ V	0,8	0,8	92	M[†]
⁵² Cr	6,1	7,2	119	PA^{††}
⁵⁵ Mn	158,5	144,0	91	M[†]
⁵⁹ Co	181,1	165,7	91	M[†]
⁶⁰ Ni	182,8	166,7	91	M[†]
⁶² Ni	180,9	165,2	91	M[†]
⁶⁵ Cu	62,4	71,8	115	PA^{††}
⁶⁶ Zn	321,3	251,8	78	M[†]
⁷⁵ As	2,7	2,8	105	PA^{††}
⁸² Se	0,3	0,3	98	M[†]
⁸⁸ Sr	7,4	6,1	82	M[†]
⁹⁵ Mo	0,2	0,2	91	M[†]
¹⁰⁷ Ag	76,6	77,7	101	PA^{††}
¹¹¹ Cd	163,4	149,7	92	M[†]
¹¹⁸ Sn	7,2	8,1	112	PA^{††}
¹²¹ Sb	0,2	0,2	88	M[†]
¹³⁷ Ba	6,0	5,6	94	M[†]
²⁰⁵ Tl	0,9	0,8	89	M[†]
²⁰⁸ Pb	28,5	28,8	101	PA^{††}
²³⁸ U	2,9	3,2	109	PA^{††}

[†]M – Digestão por microondas. ^{††}PA – Digestão por placa de aquecimento.

A eficiência relativa da extracção usando a digestão por placa de aquecimento é menor do que a eficiência alcançada pela digestão por microondas para a maioria dos metais. A digestão por microondas foi a seleccionada.

3.3 Determinação dos Limites Analíticos

Foi efectuado o estudo dos limites analíticos envolvendo as matrizes aquosas provenientes de:

Branco - Água ultrapura acidificada com ácido nítrico e peróxido de hidrogénio usando digestão por microondas.

Repetição de leitura de Branco - Leitura mais recente do ensaio Branco.

Branco após P5 - Água ultrapura acidificada com ácido nítrico e peróxido de hidrogénio, extraída após os vasos de digestão terem sido expostos a uma digestão prévia de água com concentração de metais equivalente ao quinto ponto da recta de calibração do ICP-MS (ver tabela 3.6).

Tabela 3.6 – Concentração de metais no 5º ponto da recta de calibração do ICP-MS.

Metais	5º ponto da recta do ICP-MS (µg/L)
⁷ Li	0,70
⁹ Be	0,35
²⁷ Al	3,50
⁵¹ V	0,70
⁵² Cr	0,70
⁵⁵ Mn	0,35
⁵⁹ Co	0,35
⁶⁰ Ni	0,70
⁶² Ni	0,70
⁶⁵ Cu	0,70
⁶⁶ Zn	2,80
⁷⁵ As	0,35
⁸² Se	1,40
⁸⁸ Sr	0,35
⁹⁵ Mo	0,35
¹⁰⁷ Ag	0,35
¹¹¹ Cd	0,35
¹²¹ Sb	0,35
¹³⁷ Ba	0,70
²⁰⁵ Tl	0,35
²⁰⁸ Pb	0,35
²³⁸ U	0,35

Os limites analíticos foram calculados de acordo com o descrito na secção 3.5. Efectuou-se uma replicada das análises dos Branco, porque o ICP-MS apresentava pouca sensibilidade nas primeiras leituras e os resultados apresentavam indícios de contaminação, possivelmente provocadas por impurezas no gás argon.

Durante a determinação do limite de quantificação da metodologia, sempre que possível, tentaram-se manter os limites utilizados nos métodos analíticos da EPAL; no entanto, para os metais que apresentavam valores superiores ao 1º ponto da recta de calibração em uso, foi definido um novo valor.

A tabela 3.7 apresenta os valores utilizados para a determinação do limite de quantificação da metodologia.

Tabela 3.7 - Limites de detecção e quantificação via digestão por microondas.

Ensaio	Branco*				Repetição de leitura de Branco**				Branco após P5***				LQ Met.****
	LD†	LQ††	LD*3‡	MA‡‡	LD†	LQ††	LD*3‡	MA‡‡	LD†	LQ††	LD*3‡	MA‡‡	
⁷ Li	0,01	0,03	0,03	0,03	0,01	0,03	0,03	0,03	0,01	0,03	0,03	0,03	0,10
⁹ Be	0,01	0,03	0,03	0,03	0,00	0,01	0,00	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,05
²⁷ Al	1,17	3,27	3,52	3,52	1,77	4,08	5,31	5,31	0,66	1,90	1,98	1,98	5,00
⁵¹ V	0,01	0,03	0,03	0,03	0,02	0,06	0,05	0,06	0,03	0,11	0,08	0,11	0,20
⁵² Cr	0,09	0,25	0,28	0,28	0,18	0,49	0,55	0,55	0,12	0,45	0,37	0,45	0,50
⁵⁵ Mn	0,04	0,12	0,10	0,12	0,04	0,09	0,11	0,11	0,02	0,05	0,05	0,05	0,20
⁵⁹ Co	0,01	0,03	0,03	0,03	0,01	0,03	0,03	0,03	0,00	0,01	0,01	0,01	0,05
⁶² Ni	0,08	0,19	0,23	0,23	0,07	0,19	0,21	0,21	0,17	0,46	0,52	0,52	0,60
⁶⁵ Cu	0,06	0,17	0,18	0,18	0,08	0,22	0,24	0,24	0,16	0,39	0,49	0,49	0,60
⁶⁶ Zn	0,62	1,59	1,85	1,85	0,79	2,05	2,37	2,37	0,34	0,79	1,03	1,03	5,00
⁷⁵ As	0,01	0,03	0,03	0,03	0,02	0,06	0,06	0,06	0,01	0,04	0,04	0,04	0,05
⁸² Se	0,08	0,27	0,23	0,27	0,10	0,29	0,29	0,29	0,06	0,16	0,16	0,16	0,30
⁸⁸ Sr	0,01	0,01	0,03	0,03	0,02	0,06	0,07	0,07	0,00	0,01	0,01	0,01	0,10
⁹⁵ Mo	0,01	0,03	0,03	0,03	0,02	0,04	0,05	0,05	0,01	0,02	0,02	0,02	0,05
¹⁰⁷ Ag	0,01	0,03	0,03	0,03	0,01	0,02	0,03	0,03	0,00	0,01	0,01	0,01	0,05
¹¹¹ Cd	0,01	0,02	0,02	0,02	0,01	0,02	0,01	0,02	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05
¹¹⁸ Sn	0,11	0,24	0,32	0,32	0,10	0,21	0,30	0,30	0,15	0,33	0,44	0,44	0,50
¹²¹ Sb	0,01	0,03	0,03	0,03	0,05	0,14	0,14	0,14	0,02	0,04	0,05	0,05	0,20
¹³⁷ Ba	0,02	0,06	0,07	0,07	0,05	0,11	0,13	0,13	0,02	0,03	0,04	0,04	0,20
²⁰⁵ Tl	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,05
²⁰⁸ Pb	0,01	0,03	0,04	0,04	0,02	0,04	0,05	0,05	0,01	0,02	0,02	0,02	0,05
²³⁸ U	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,01	0,01	0,05

***Branco** – Digestão por microondas de água ultrapura com adição de ácido nítrico e peróxido de hidrogénio.

****Repetição de leitura** – Leitura mais recente do ensaio Branco. *****Branco após P5** – Digestão de água ultrapura com ácido nítrico e peróxido de hidrogénio, após digestão prévia com metais; **P5** – concentração de metais correspondente ao 5º ponto da recta de calibração do ICP-MS. †**LD** – Limite de Detecção. ††**LQ** – Limite de Quantificação. ‡**LD*3** – Três vezes o valor de LD. ‡‡**MA** – Valor majorante. **LQ Met.** – Limite de quantificação da metodologia.

3.4 Validação da digestão por microondas como método de extracção

Realizaram-se dois estudos de recuperação envolvendo adição de metais teor indicado nas tabelas 3.8 e 3.9. Em ambos, a água utilizada foi água ultrapura acidificada com ácido nítrico e peróxido de hidrogénio. Como condição de aceitação considerou-se aceitável a recuperação de 90% (a perda até 10% do teor original).

A tabela 3.8 descreve os resultados obtidos para um teor de metais próximo do limite de quantificação.

Tabela 3.8 – Validação da digestão por microondas como método de extracção para cada metal analisado, estudo da recuperação.

Metais	Teor de metais adicionado (µg/L)	Concentração final (µg/L)	Perda (%)	Avaliação
⁷ Li	0,10	0,10	-4,3	V*
⁹ Be	0,20	0,19	-4,6	V*
²⁷ Al	5,00	8,23	39,2	NV**
⁵¹ V	0,20	0,18	-8,8	V*
⁵² Cr	0,50	0,49	-2,2	V*
⁵⁵ Mn	0,20	0,19	-4,0	V*
⁵⁹ Co	0,20	0,19	-4,1	V*
⁶⁰ Ni	0,60	0,62	2,6	V*
⁶² Ni	0,60	0,62	2,4	V*
⁶⁵ Cu	0,60	0,60	0,6	V*
⁶⁶ Zn	5,00	5,76	13,1	NV**
⁷⁵ As	0,20	0,20	-1,4	V*
⁸² Se	0,30	0,29	-4,6	V*
⁸⁸ Sr	0,10	0,10	2,7	V*
⁹⁵ Mo	0,20	0,19	-3,5	V*
¹⁰⁷ Ag	0,20	0,19	-3,1	V*
¹¹¹ Cd	0,20	0,19	-4,5	V*
¹²¹ Sb	0,20	0,22	8,5	V*
¹³⁷ Ba	0,20	0,20	1,1	V*
²⁰⁵ Tl	0,20	0,20	-1,4	V*
²⁰⁸ Pb	0,20	0,20	0,1	V*
²³⁸ U	0,05	0,06	14,0	NV**

*V – Validado; **NV – Não Validado

O estanho (Sn) é preservado em HCl, precipita facilmente em água (com OH⁻), pelo que deixou de ser utilizado. O urânio (U) apresenta contaminação de origem não identificada. O Al e o Zn são metais difíceis de analisar sem contaminações a nível vestigial; por esse motivo e pelo facto de normalmente se encontrarem a concentrações mais elevadas do que os restantes metais, foi tomada a decisão de serem analisados recorrendo também ao ICP-OES (além de ICP-MS).

A tabela 3.9 descreve os resultados obtidos para a concentração de metais correspondente ao quinto ponto da recta de calibração do ICP-MS.

Tabela 3.9 - Validação da digestão por microondas como método de extracção para cada metal analisado, através da análise de perdas da concentração de metais na água.

Metais	Teor de metais adicionado (µg/L)	Concentração final (µg/L)	Perda (%)	Avaliação
⁷ Li	0,70	0,64	-9,5	V*
⁹ Be	0,35	0,32	-7,9	V*
²⁷ Al	3,50	4,03	13,1	NV**
⁵¹ V	0,70	0,63	-9,4	V*
⁵² Cr	0,70	0,65	-7,3	V*
⁵⁵ Mn	0,35	0,31	-10,2	V*
⁵⁹ Co	0,35	0,32	-9,0	V*
⁶⁰ Ni	0,70	0,93	24,6	NV**
⁶² Ni	0,70	0,92	23,9	NV**
⁶⁵ Cu	0,70	0,72	2,8	V*
⁶⁶ Zn	2,80	3,09	9,5	V*
⁷⁵ As	0,35	0,34	-2,9	V*
⁸² Se	1,40	1,27	-10,2	V*
⁸⁸ Sr	0,35	0,34	-4,6	V*
⁹⁵ Mo	0,35	0,32	-9,0	V*
¹⁰⁷ Ag	0,35	0,32	-9,5	V*
¹¹¹ Cd	0,35	0,32	-8,6	V*
¹²¹ Sb	0,35	0,34	-1,6	V*
¹³⁷ Ba	0,70	0,64	-9,2	V*
²⁰⁵ Tl	0,35	0,32	-9,5	V*
²⁰⁸ Pb	0,35	0,32	-8,5	V*
²³⁸ U	0,35	0,33	-7,8	V*

*V – Validado; **NV – Não Validado

A uma concentração mais elevada os problemas observados anteriormente para Al, Zn e U diminuíram ou desapareceram, no entanto, ocorreu uma contaminação de níquel de origem desconhecida. Os restantes metais passaram nos critérios de validação.

3.5 Determinação dos coeficientes de difusão

Uma das maiores problemáticas na área de amostragem passiva inorgânica advém da necessidade de utilização de coeficientes de difusão (D). Utilizando o ensaio laboratorial descrito na secção 2.3.5, determinaram-se os coeficientes de difusão, a quatro temperaturas (13, 15, 20 e 25 °C), descritos na tabela 3.10. Ocorreram algumas variações de pH ao longo dos ensaios, o registo dos valores diários encontra-se no anexo IV, e a média resultante está indicada na tabela 3.10.

Tabela 3.10 - Coeficientes de difusão determinados experimentalmente.

Metais	Coeficientes de difusão obtidos experimentalmente			
	12,9 °C	15°C	20°C	25°C
	pH=4,3	pH=4,9	pH=5,1	pH=4,5
Amostrador passivo DGT-Me				
⁷ Li*	-	-	-	-
⁹ Be	4,55E-07	4,47E-07	4,91E-07	3,79E-07
²⁷ Al	1,68E-06	2,44E-06	3,61E-06	2,54E-06
Al (OES)	2,15E-06	2,90E-06	2,25E-06	3,98E-06
⁵¹ V	4,16E-06	3,47E-06	4,42E-06	5,91E-06
⁵⁹ Co	2,63E-06	3,96E-06	4,36E-06	2,61E-06
⁶⁰ Ni	3,49E-06	4,52E-06	5,04E-06	3,61E-06
⁶⁵ Cu	3,29E-06	3,72E-06	4,32E-06	5,46E-06
⁶⁶ Zn	2,05E-06	5,96E-06	3,82E-06	2,24E-06
Zn* (OES)	-	6,20E-06	-	4,90E-06
⁸⁸ Sr	9,34E-08	1,02E-07	1,10E-07	1,18E-07
⁹⁵ Mo	4,52E-06	2,68E-06	3,63E-06	6,30E-06
¹⁰⁷ Ag*	4,01E-08	4,78E-08	3,30E-08	-
¹¹¹ Cd	1,50E-06	2,85E-06	3,02E-06	1,74E-06
¹³⁷ Ba	6,01E-08	1,39E-07	1,31E-07	1,45E-07
²⁰⁸ Pb	4,00E-06	6,33E-06	5,35E-06	5,58E-06
²³⁸ U	2,93E-06	4,06E-06	3,02E-06	1,90E-06
Amostrador passivo DGT-As				
⁵² Cr*	-	3,07E-06	3,64E-06	-
⁷⁵ As	7,25E-06	4,80E-06	8,91E-06	8,13E-06
⁸² Se	5,83E-06	3,24E-06	4,93E-06	6,46E-06
¹²¹ Sb	2,97E-06	2,03E-06	2,83E-06	4,23E-06

* - Não foi possível calcular os coeficientes de difusão para os metais cuja concentração se encontrava abaixo do limite de quantificação.

Os coeficientes de difusão (D) descritos na literatura correspondem à temperatura de 25°C. Na tabela 3.11 encontram-se os valores de D a 25°C cuja origem é:

Fornecedor dos amostradores – Difusão em gel poliacrilamida (APA), restantes condições desconhecidas (foram os valores recomendados);

Garmo⁷⁵ – Difusão em amostradores DGT-Me; pH=4,7;

Shiva⁶⁶ – Difusão em amostradores DGT-Me; pH =4,0;

Davison⁴⁴ – Difusão em água; pH não especificado;

Panther⁸² – Difusão em amostradores DGT-As; pH=5,0.

Tabela 3.11 – Comparação dos coeficientes de difusão da literatura com os obtidos experimentalmente, a 25°C.

Metais	Coeficientes de difusão descritos na literatura (25°C)					Coeficiente de Difusão Experimental (25°C) pH=4,5
	Fornecedor dos amostradores* (25°C)	Garmo ⁷⁵ (25°C) pH=4,7	Shiva ⁶⁶ (25°C) pH=4,0	Davison ⁴⁴ (25°C)	Panther ⁸² (25°C) pH=5,0	
DGT-Me						
²⁷ Al	4,75E-06	5,10E-06	4,14E-06	4,60E-06	-	2,54E-06
Al (OES)	4,75E-06	5,10E-06	4,14E-06	-	-	3,98E-06
⁵¹ V	-	5,10E-06	3,88E-06	6,70E-06	-	5,91E-06
⁵⁹ Co	5,94E-06	5,80E-06	5,03E-06	6,22E-06	-	2,61E-06
⁶⁰ Ni	5,77E-06	6,30E-06	5,13E-06	5,99E-06	-	3,61E-06
⁶⁵ Cu	6,23E-06	6,60E-06	5,27E-06	6,07E-06	-	5,46E-06
⁶⁶ Zn	6,08E-06	3,80E-06	5,39E-06	5,98E-06	-	2,24E-06
Zn (OES)	6,08E-06	3,80E-06	5,39E-06	5,98E-06	-	4,90E-06
⁸⁸ Sr	-	3,30E-06	-	-	-	1,18E-07
⁹⁵ Mo	-	2,80E-06	5,58E-06	6,00E-06	-	6,30E-06
¹¹¹ Cd	6,09E-06	4,70E-06	5,36E-06	6,11E-06	-	1,74E-06
¹³⁷ Ba	-	3,90E-06	-	-	-	1,45E-07
²⁰⁸ Pb	8,03E-06	1,03E-05	6,80E-06	8,03E-06	-	5,58E-06
²³⁸ U	-	4,80E-06	-	5,60E-06	-	1,90E-06
DGT – As						
⁷⁵ As	6,00E-06	-	-	5,50E-06	6,40E-06	8,13E-06

* - ver Anexo I.

Os coeficientes de difusão da literatura para as restantes temperaturas foram calculados a partir da equação (22).

$$\log D_T = \left[\frac{(1,37023(T - 25) + 8,36 \times 10^{-4}(T - 25)^2)}{109 + T} \right] + \log \left(\frac{D_{25}(273 + T)}{298} \right) \quad (22)$$

Foram calculados coeficientes de difusão para Cr, Se e Sb a partir da utilização de amostradores DGT-As; na literatura não foram encontrados valores para comparação.

Como pode ser observado na tabela 3.11, os coeficientes de difusão descritos por Garmo⁷⁵ quando comparados com os obtidos experimentalmente neste trabalho são diferentes, apesar da temperatura ser a mesma e o pH apenas ligeiramente diferente (4,5 e 4,7). Levanta-se assim a questão da existência de outros factores que influenciam o seu valor.

Os gráficos 3.1 – 3.16 ilustram a comparação entre os coeficientes de difusão experimentais já descritos na tabela 3.10 e os coeficientes de difusão da literatura a 25°C, já descritos na tabela 3.11 e calculados para 12,9°C, 15°C e 20°C segundo a equação (22).

Coeficientes de difusão calculados a partir de DGT- Me

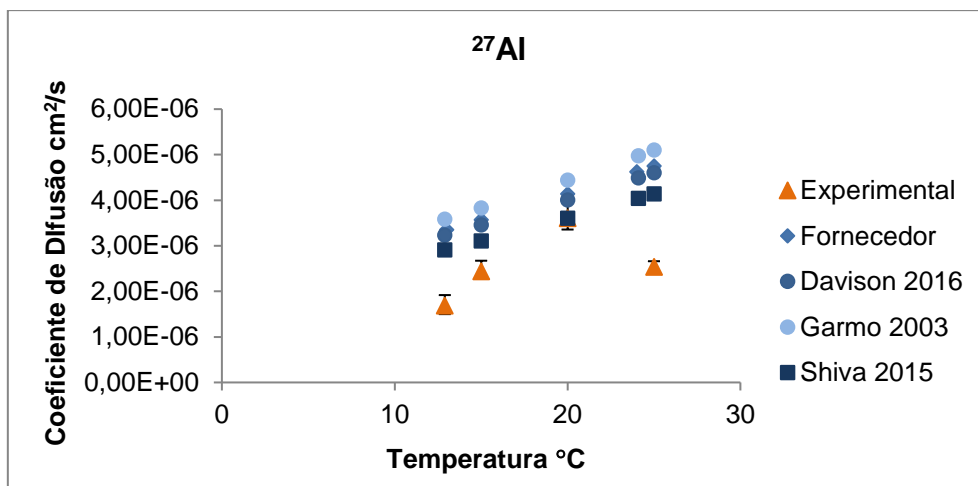


Figura 3.1 – Comparação entre os coeficientes de difusão para alumínio segundo a literatura (^{44,66,75}) e obtidos experimentalmente (leitura por ICP-MS).

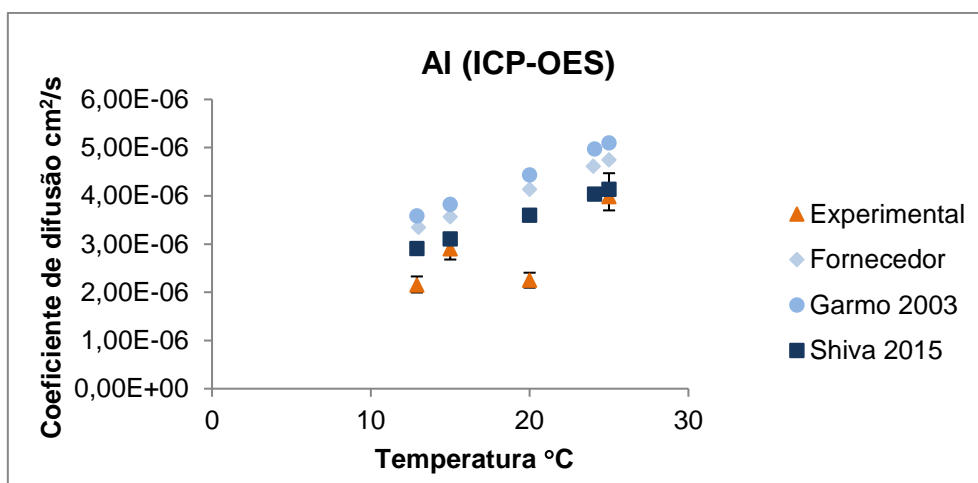


Figura 3.2 - Comparação entre os coeficientes de difusão para alumínio segundo a literatura (^{66,75}) e obtidos experimentalmente (leitura por ICP-OES).

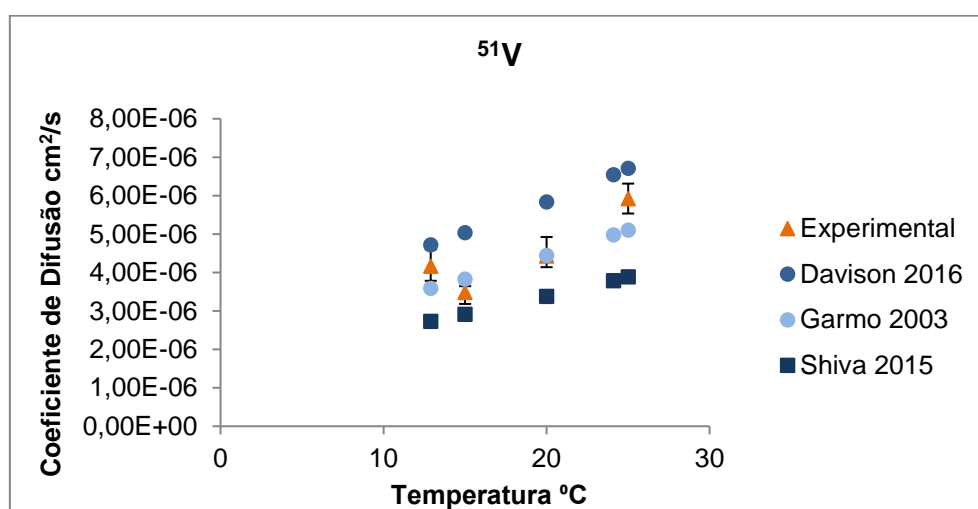


Figura 3.3 - Comparação entre os coeficientes de difusão para vanádio segundo a literatura (^{44,66,75}) e obtidos experimentalmente (leitura por ICP-MS).

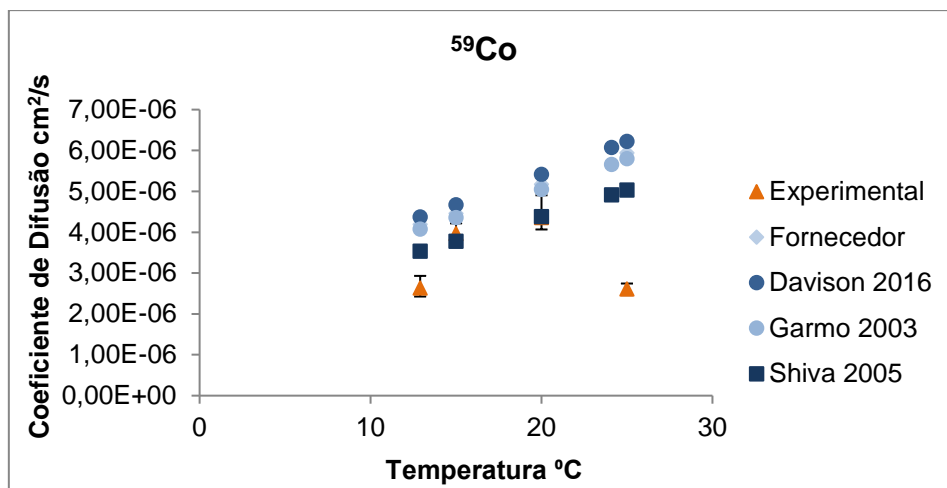


Figura 3.4 - Comparação entre os coeficientes de difusão para cobalto segundo a literatura (^{44,66,75}) e obtidos experimentalmente (leitura por ICP-MS).

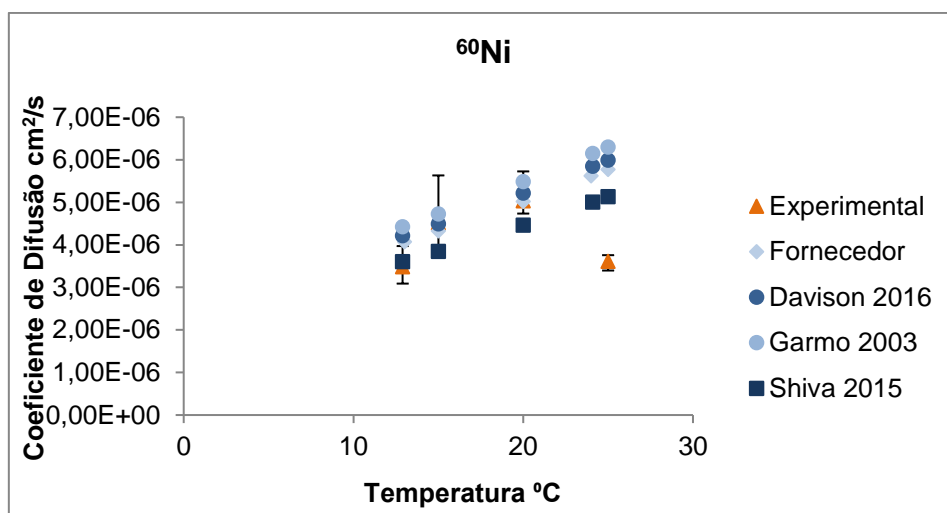


Figura 3.5 - Comparação entre os coeficientes de difusão para níquel segundo a literatura (^{44,66,75}) e obtidos experimentalmente (leitura por ICP-MS).

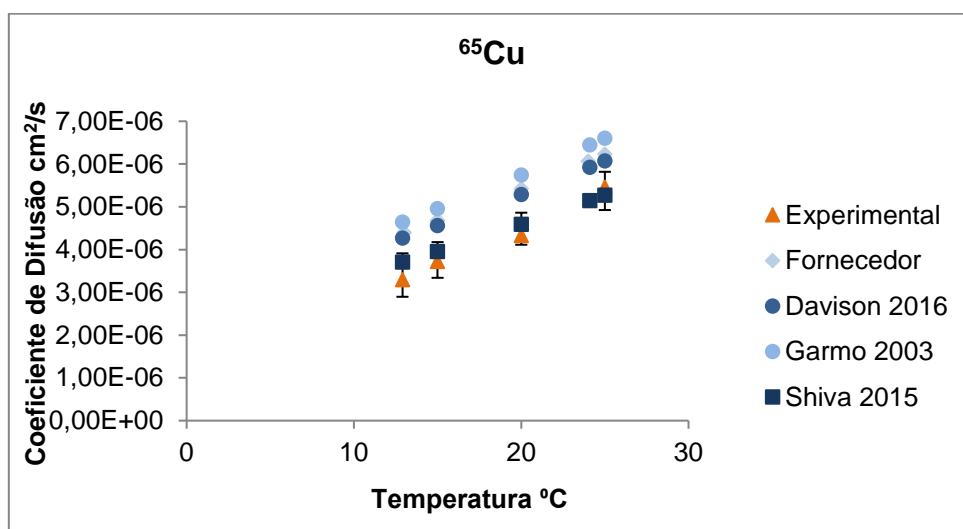


Figura 3.6 - Comparação entre os coeficientes de difusão para cobre segundo vários a literatura (^{44,66,75}) e obtidos experimentalmente (leitura por ICP-MS).

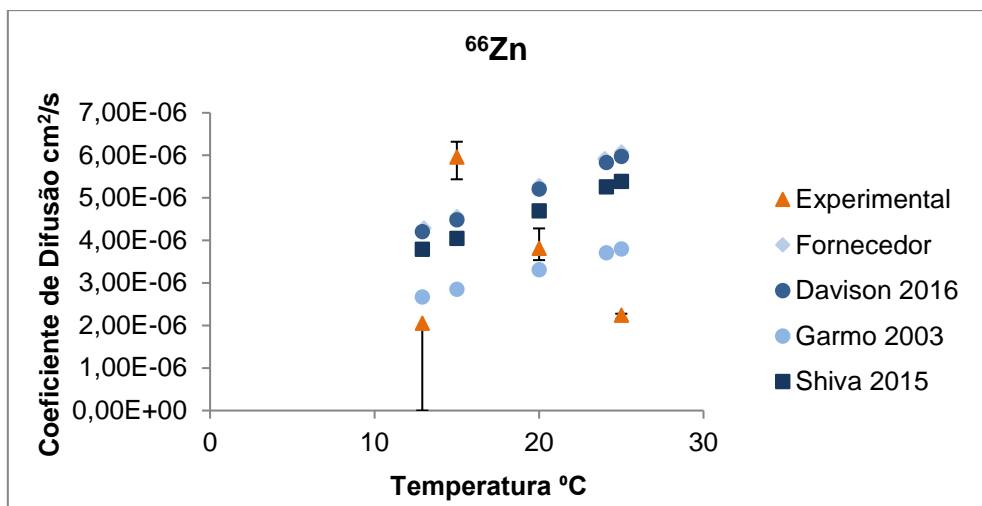


Figura 3.7 - Comparação entre os coeficientes de difusão para zinco segundo a literatura (^{44,66,75}) e obtidos experimentalmente (leitura por ICP-MS).

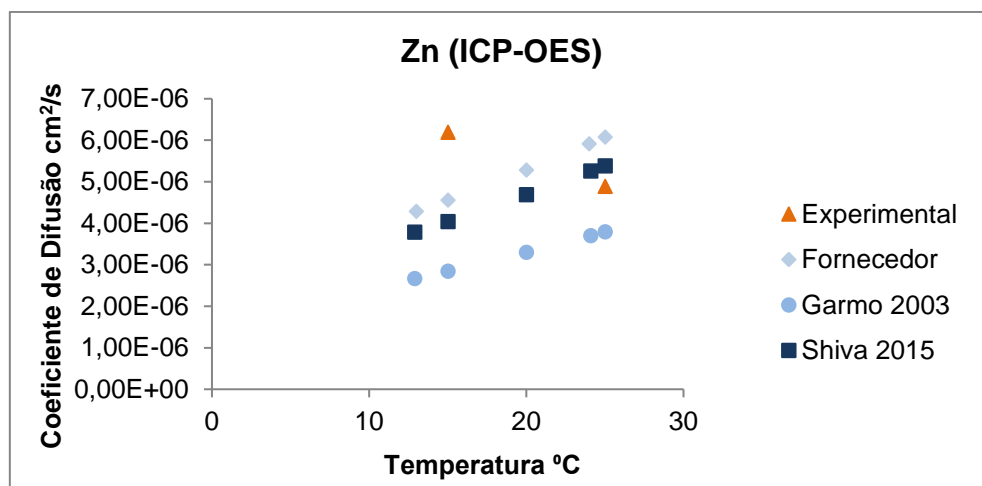


Figura 3.8 - Comparação entre os coeficientes de difusão para zinco segundo a literatura (^{44,66,75}) e obtidos experimentalmente (leitura por ICP-OES).

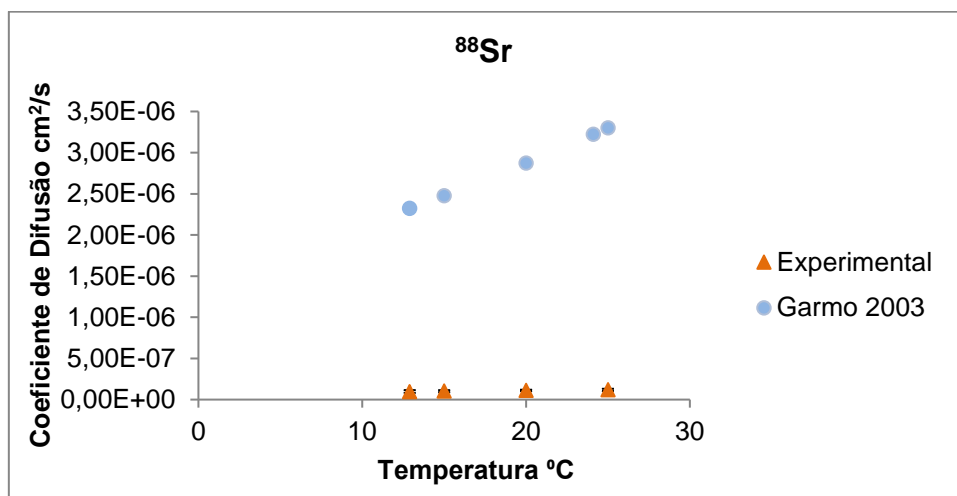


Figura 3.9 - Comparação entre os coeficientes de difusão para estrôncio segundo a literatura (⁷⁵) e obtidos experimentalmente (leitura por ICP-MS).

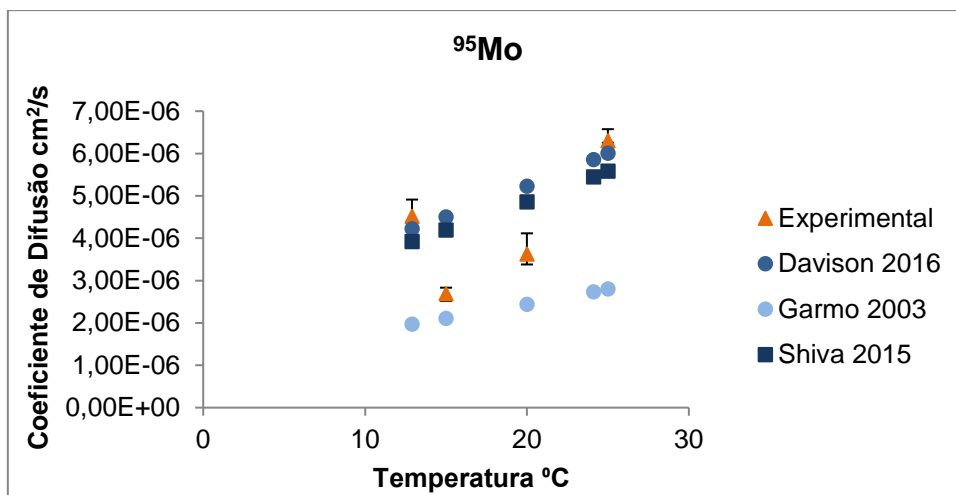


Figura 3.10 - Comparação entre os coeficientes de difusão para molibdênio segundo a literatura (^{44,66,75}) e obtidos experimentalmente (leitura por ICP-MS).

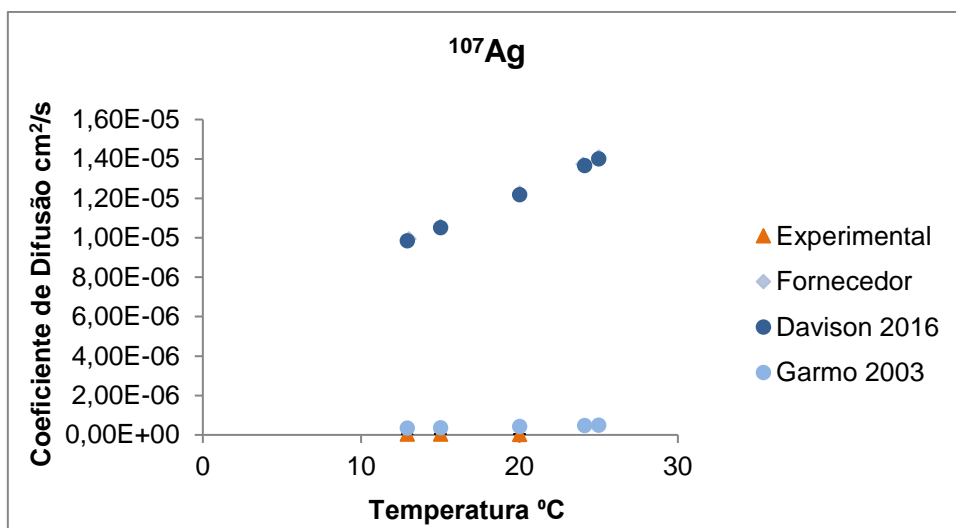


Figura 3.11 - Comparação entre os coeficientes de difusão para prata segundo a literatura (^{44,75}) e obtidos experimentalmente (leitura por ICP-MS).

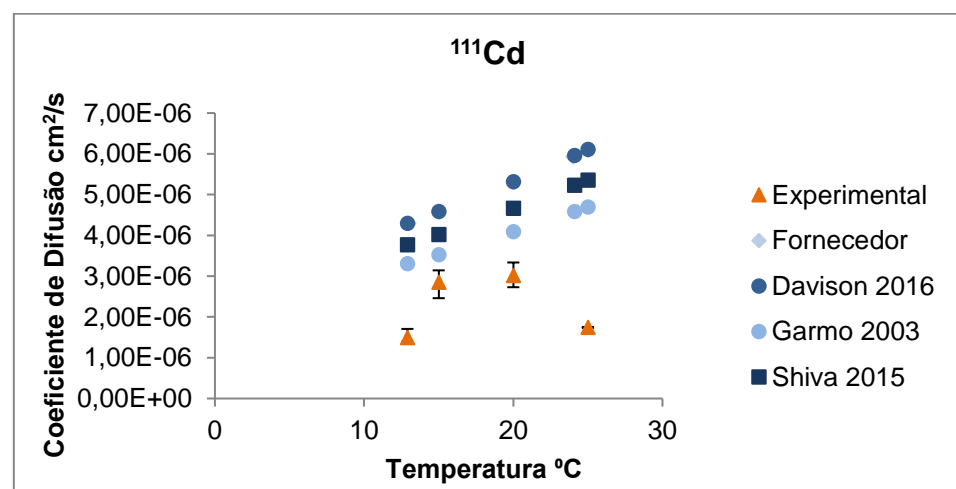


Figura 3.12 - Comparação entre os coeficientes de difusão para cádmio segundo a literatura (^{44,66,75}) e obtidos experimentalmente (leitura por ICP-MS).

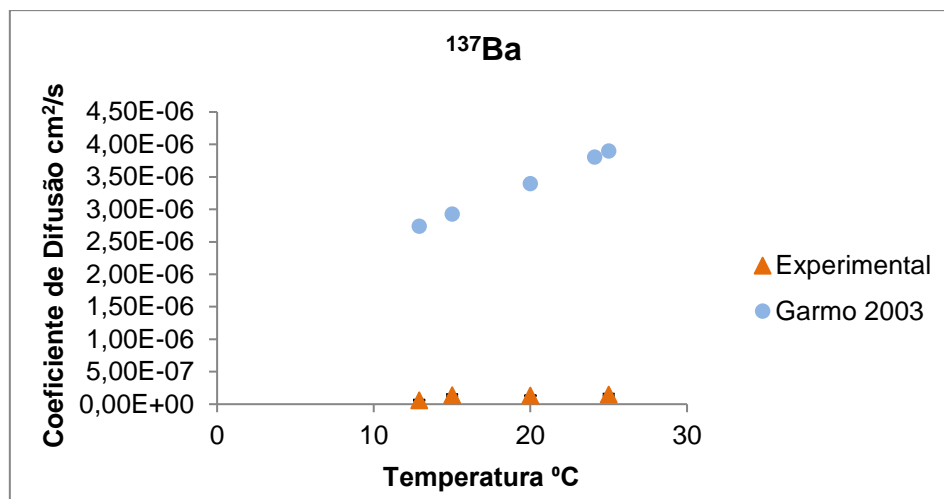


Figura 3.13 - Comparação entre os coeficientes de difusão para bário segundo a literatura (⁷⁵) e obtidos experimentalmente (leitura por ICP-MS).

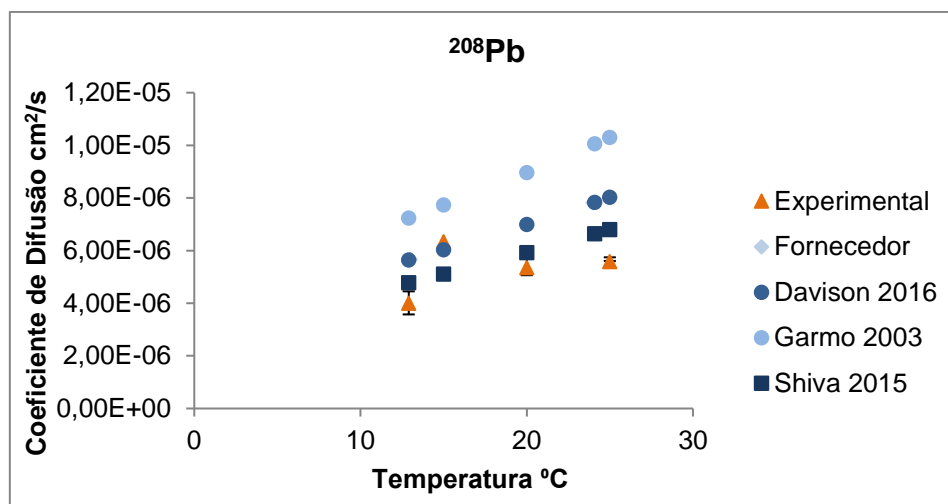


Figura 3.14 - Comparação entre os coeficientes de difusão para chumbo segundo a literatura (^{44,66,75}) e obtidos experimentalmente (leitura por ICP-MS).

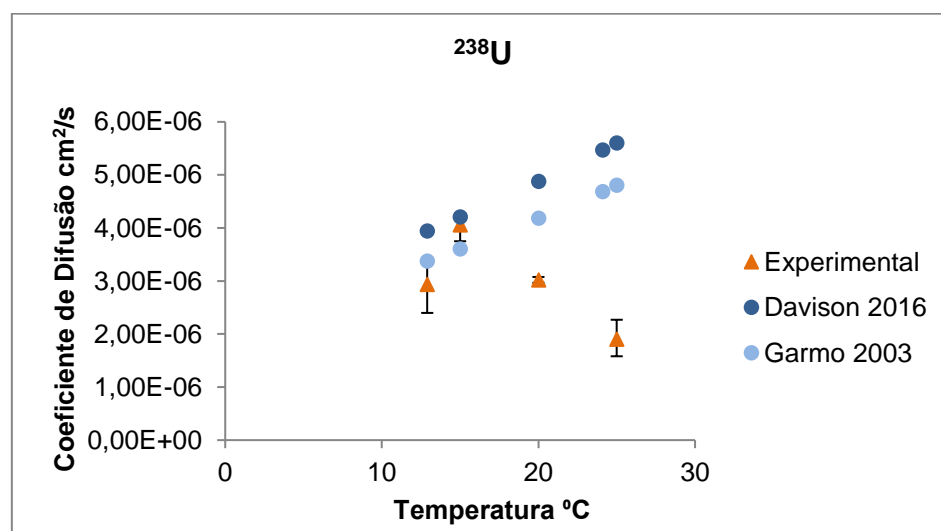


Figura 3.15 - Comparação entre os coeficientes de difusão para urânio segundo a literatura (^{44,75}) e obtidos experimentalmente (leitura por ICP-MS).

Coeficiente de difusão calculado a partir de DGT-As

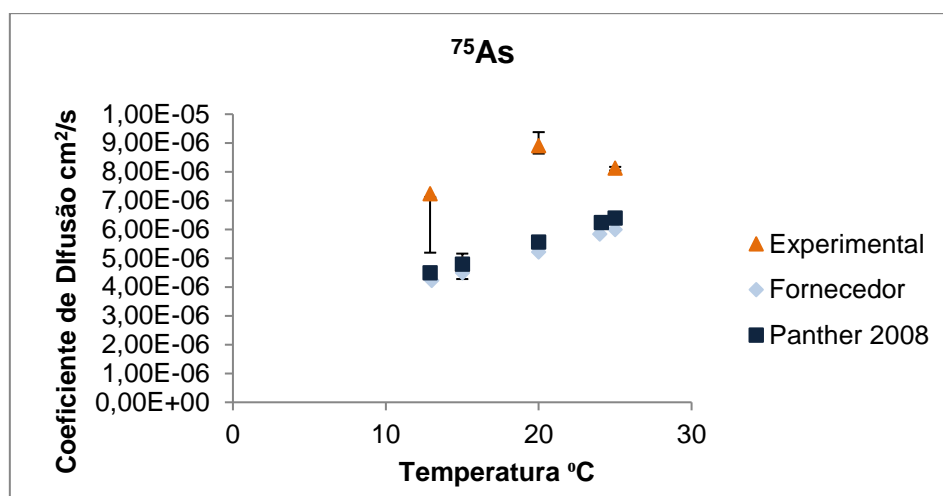


Figura 3.16 - Comparação entre os coeficientes de difusão para arsénio segundo a literatura ⁽⁸²⁾ e obtidos experimentalmente (leitura por ICP-MS).

A prata (Ag) não apresenta coeficiente de difusão para 25°C porque a concentração, que permitiria a sua determinação, encontrava-se abaixo do limite de quantificação. O coeficiente de arsénio (As) só pôde ser comparado com o de Panther ⁸² e o do fornecedor, porque se trata de um amostrador diferente (DGT-As) para o qual não existem tantas determinações de coeficiente de difusão.

Os resultados sugerem que os coeficientes de difusão de Cu possuem uma dependência importante da temperatura, exibindo um comportamento linear, à semelhança dos calculados pela equação (22). Verifica-se que os restantes metais apresentam grandes variações dos seus coeficientes de difusão, as quais podem ser devidas não só à temperatura, mas também ao pH, e a outros factores.

Tendo em conta a temperatura e o pH, seria de esperar que os coeficientes experimentais determinados a 25°C e pH 4,5 fossem comparáveis aos determinados por Garmo⁷⁵ a 25°C e pH 4,7. No entanto, não se verificou essa semelhança. O V é o metal que apresentou maior proximidade dos valores. Verificou-se também a influência das técnicas utilizadas nos valores obtidos, tendo-se obtido para o Al e o Zn coeficientes de difusão mais próximos dos já descritos na literatura quando a determinação foi realizada por ICP-OES em vez de ICP-MS. O Co, o Ni, o Sr e o Ba apresentam valores muito discrepantes, por vezes nem sequer mantendo o mesmo grau de grandeza. O Cu, o Al, o Zn, o Cd, o Pb e o U apresentam coeficientes de difusão mais próximos dos descritos por Shiva⁶⁶ a pH 4,0.

A tabela 3.12 apresenta os coeficientes de difusão calculados partindo do valor obtido experimentalmente a 25°C, utilizando a equação (22). Estes coeficientes de difusão foram posteriormente utilizados para o cálculo das concentrações de metais nos amostradores passivos.

Tabela 3.12 - Coeficientes de difusão calculados utilizando a equação (22) e o coeficiente de difusão obtido experimentalmente a 25°C.

Metais	Temperatura (°C)					
	12,9	15	20	24,1	25	25,8
²⁷ Al	1,78E-06	1,90E-06	2,21E-06	2,47E-06	2,54E-06	2,59E-06
Al (OES)	2,80E-06	2,99E-06	3,47E-06	3,89E-06	3,98E-06	4,07E-06
⁵² Cr	2,27E-06	2,43E-06	2,81E-06	3,15E-06	3,23E-06	3,30E-06
⁵¹ V	4,16E-06	4,44E-06	5,15E-06	5,77E-06	5,91E-06	6,04E-06
⁵⁹ Co	1,84E-06	1,96E-06	2,27E-06	2,55E-06	2,61E-06	2,67E-06
⁶⁰ Ni	2,54E-06	2,71E-06	3,15E-06	3,53E-06	3,61E-06	3,69E-06
⁶² Ni	2,66E-06	2,84E-06	3,30E-06	3,69E-06	3,79E-06	3,87E-06
⁶⁵ Cu	3,84E-06	4,10E-06	4,75E-06	5,33E-06	5,46E-06	5,58E-06
⁶⁶ Zn	1,57E-06	1,68E-06	1,95E-06	2,19E-06	2,24E-06	2,29E-06
Zn (OES)	3,44E-06	3,67E-06	4,26E-06	4,78E-06	4,90E-06	5,00E-06
⁷⁵ As	5,72E-06	6,10E-06	7,08E-06	7,94E-06	8,13E-06	8,31E-06
⁸² Se	4,54E-06	4,85E-06	5,62E-06	6,31E-06	6,46E-06	6,60E-06
⁸⁸ Sr	8,33E-08	8,89E-08	1,03E-07	1,16E-07	1,18E-07	1,21E-07
⁹⁵ Mo	4,43E-06	4,73E-06	5,48E-06	6,15E-06	6,30E-06	6,43E-06
¹¹¹ Cd	1,23E-06	1,31E-06	1,52E-06	1,70E-06	1,74E-06	1,78E-06
¹²¹ Sb	2,97E-06	3,18E-06	3,68E-06	4,13E-06	4,23E-06	4,32E-06
¹³⁷ Ba	1,02E-07	1,09E-07	1,26E-07	1,41E-07	1,45E-07	1,48E-07
²⁰⁸ Pb	3,92E-06	4,19E-06	4,86E-06	5,45E-06	5,58E-06	5,70E-06
²³⁸ U	1,34E-06	1,43E-06	1,66E-06	1,86E-06	1,90E-06	1,94E-06

3.6 Amostragem Passiva

3.6.1 Ensaio Laboratorial

Os ensaios que permitiram a determinação dos coeficientes de difusão possibilitaram também o cálculo das concentrações de metais na amostragem passiva, em condições controladas, e a comparação com a amostragem pontual.

Foi calculada a média de concentrações de metais nas colheitas de água pontuais e as concentrações de metais através dos amostradores DGT, tendo em conta o descrito na secção 1.3.2 e os coeficientes de difusão da tabela 3.10. As incertezas foram calculadas seguindo a metodologia descrita na secção 3.8 e encontram-se representadas por barras. Os resultados estão ilustrados nas figuras 3.17 à 3.30.

Concentração utilizando DGT-Me

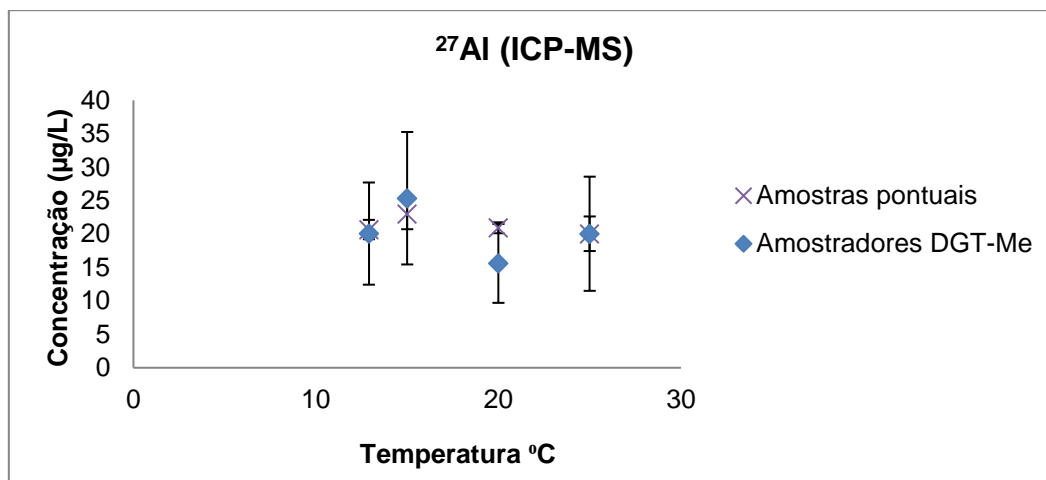


Figura 3.17 - Comparação da concentração de alumínio obtida através de amostras pontuais e utilizando amostradores passivos (leitura em ICP-MS).

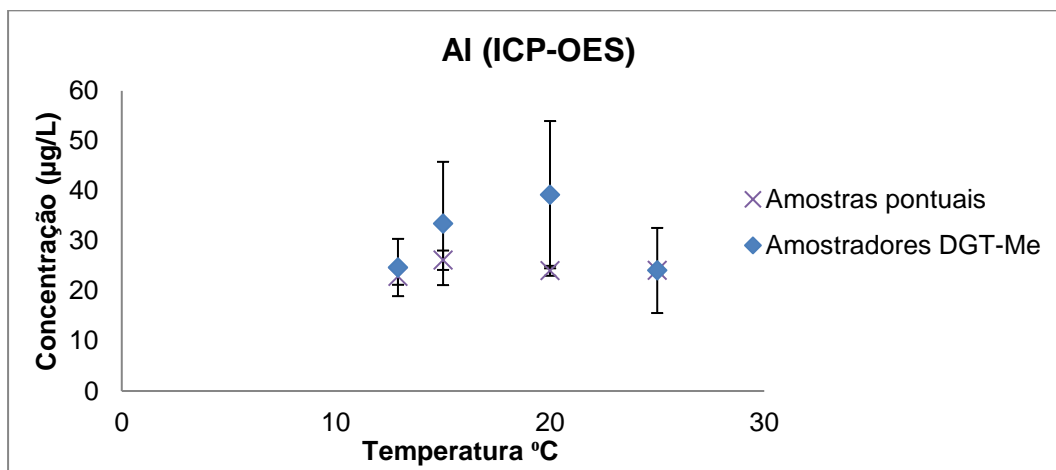


Figura 3.18 - Comparação da concentração de alumínio obtida através de amostras pontuais e utilizando amostradores passivos (leitura em ICP-OES).

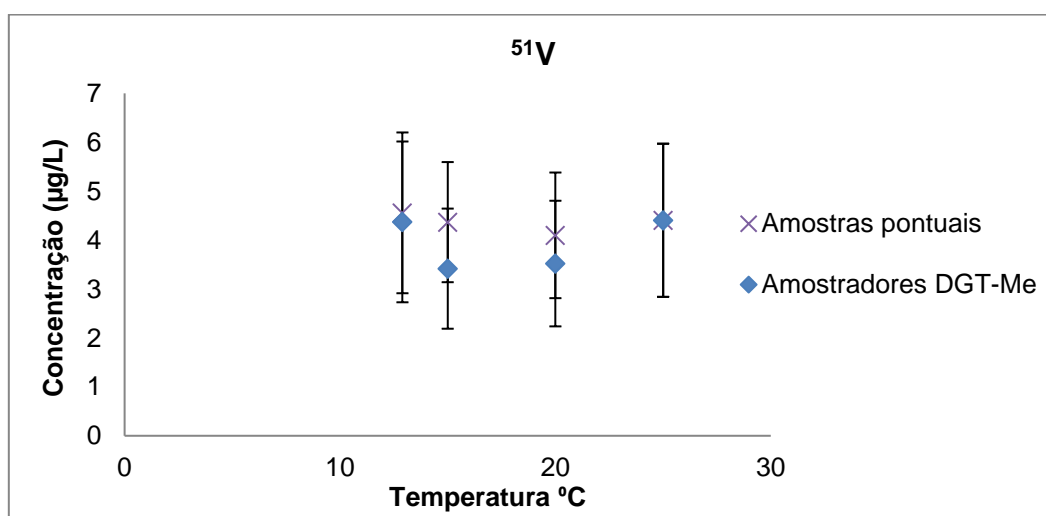


Figura 3.19 - Comparação da concentração de vanádio obtida através de amostras pontuais e utilizando amostradores passivos (leitura em ICP-MS).

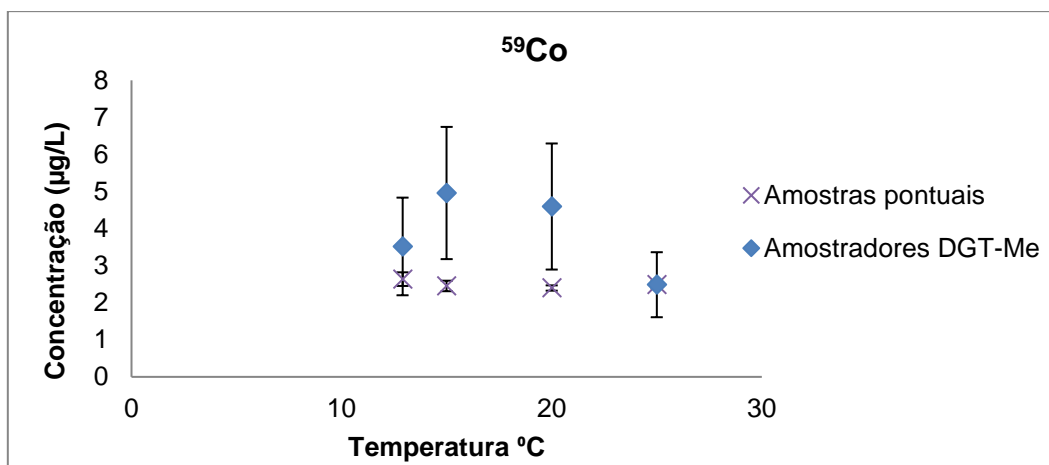


Figura 3.20 - Comparação da concentração de cobalto obtida através de amostras pontuais e utilizando amostradores passivos (leitura em ICP-MS).

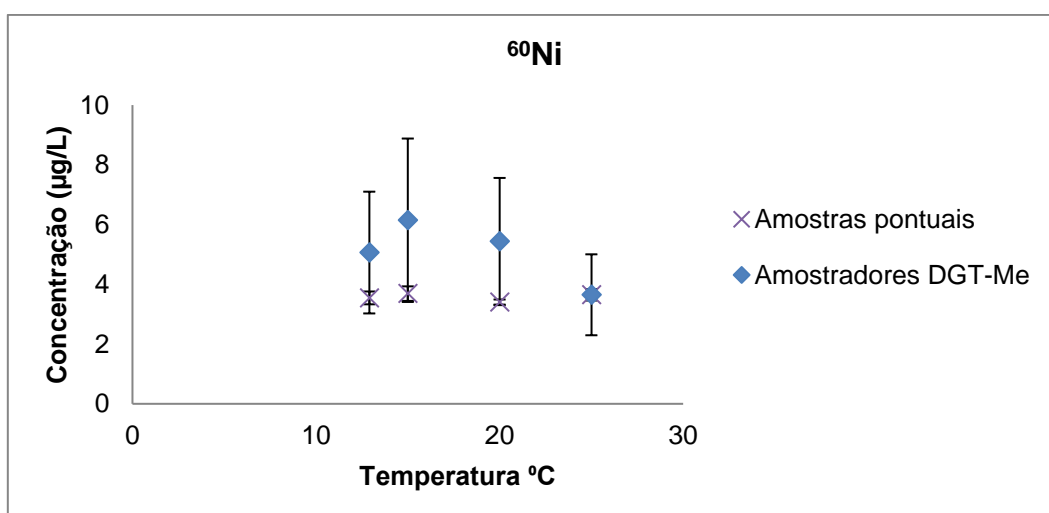


Figura 3.21 - Comparação da concentração de níquel obtida através de amostras pontuais e utilizando amostradores passivos (leitura em ICP-MS).

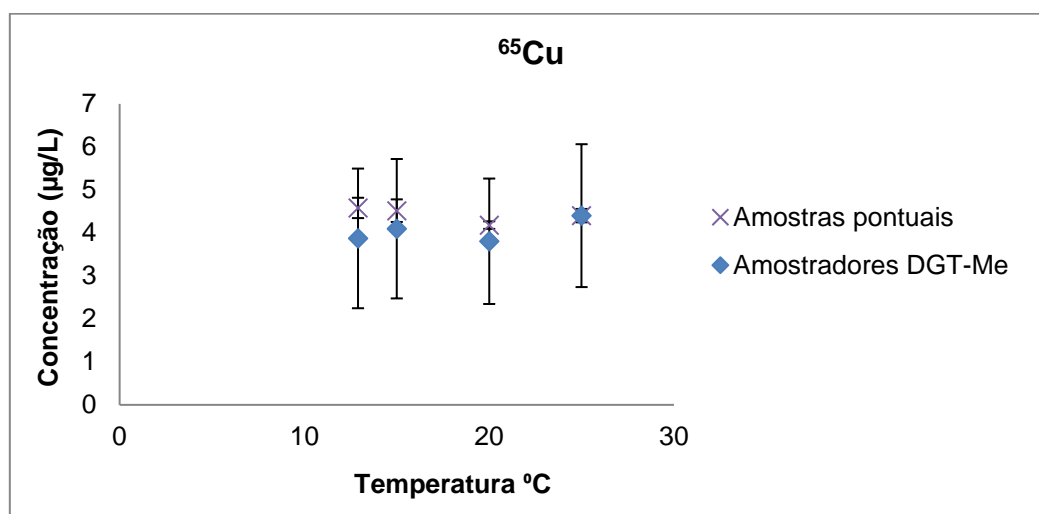


Figura 3.22 - Comparação da concentração de cobre obtida através de amostras pontuais e utilizando amostradores passivos (leitura em ICP-MS).

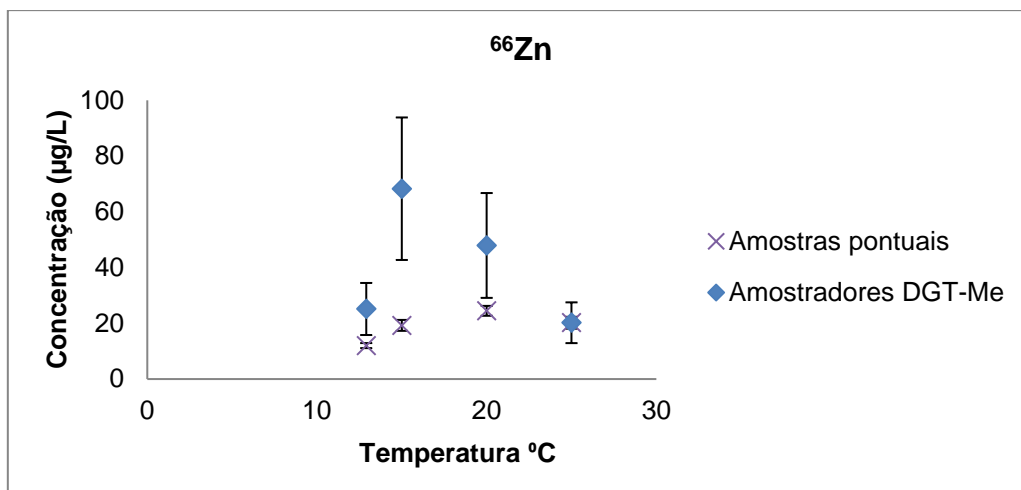


Figura 3.23 - Comparação da concentração de zinco obtida através de amostras pontuais e utilizando amostradores passivos (leitura em ICP-MS).

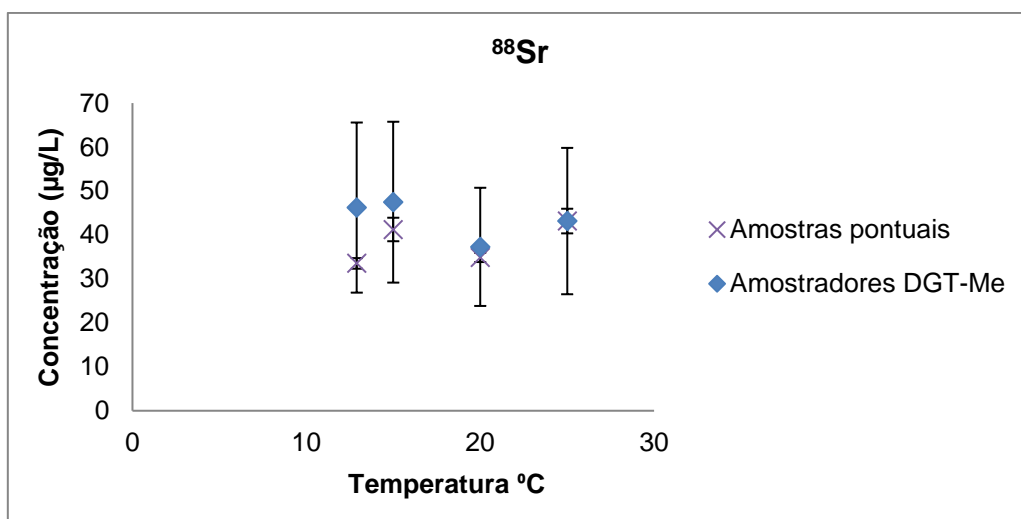


Figura 3.24 - Comparação da concentração de estrôncio obtida através de amostras pontuais e utilizando amostradores passivos (leitura em ICP-MS).

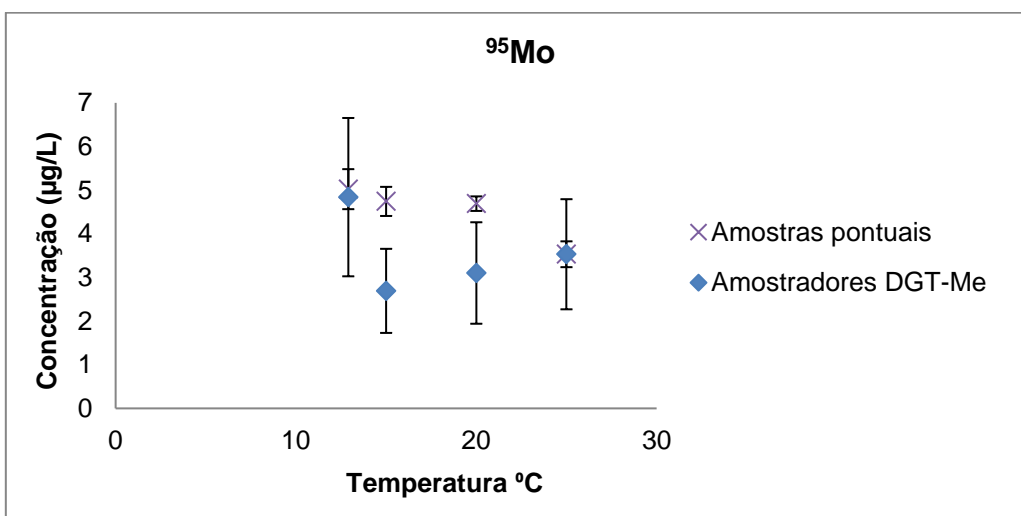


Figura 3.25 - Comparação da concentração de molibdênio obtida através de amostras pontuais e utilizando amostradores passivos (leitura em ICP-MS).

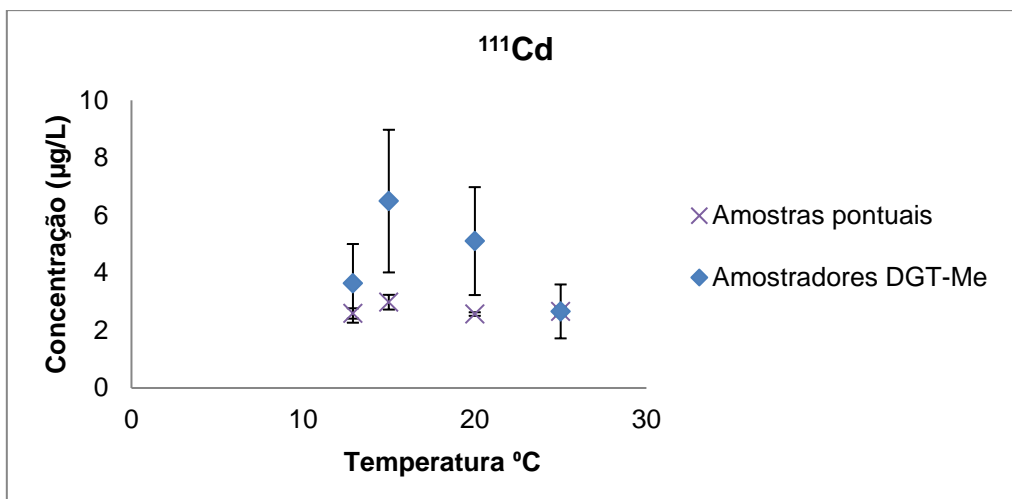


Figura 3.26 - Comparação da concentração de cádmio obtida através de amostras pontuais e utilizando amostradores passivos (leitura em ICP-MS).

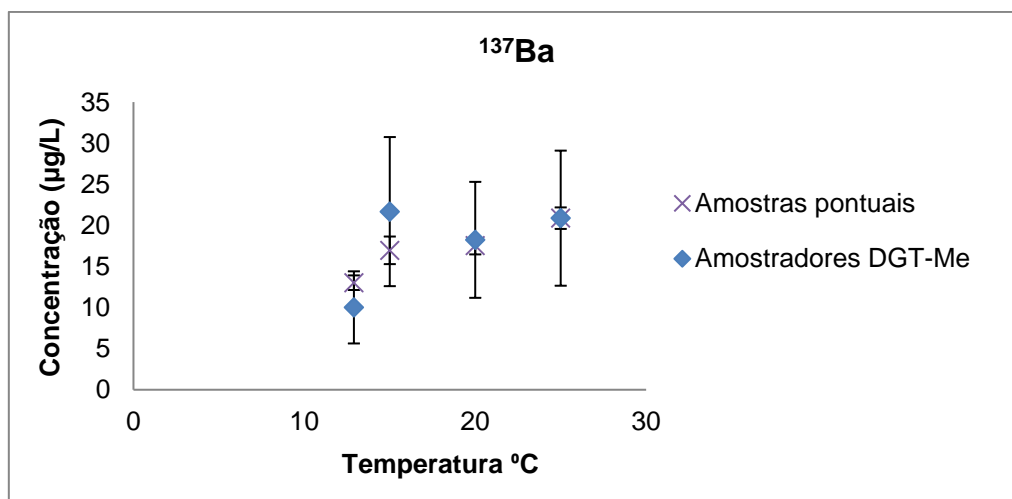


Figura 3.27 - Comparação da concentração de bário obtida através de amostras pontuais e utilizando amostradores passivos (leitura em ICP-MS).

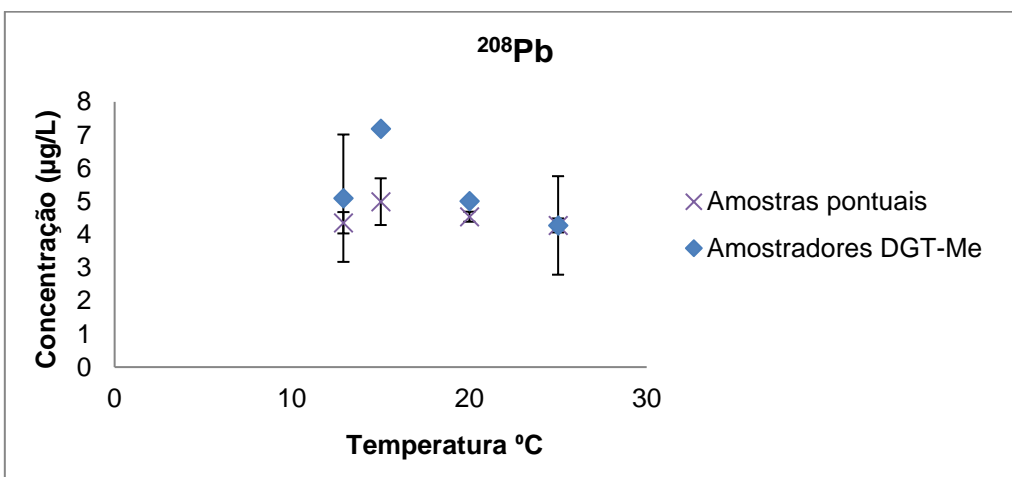


Figura 3.28 - Comparação da concentração de chumbo obtida através de amostras pontuais e utilizando amostradores passivos (leitura em ICP-MS).

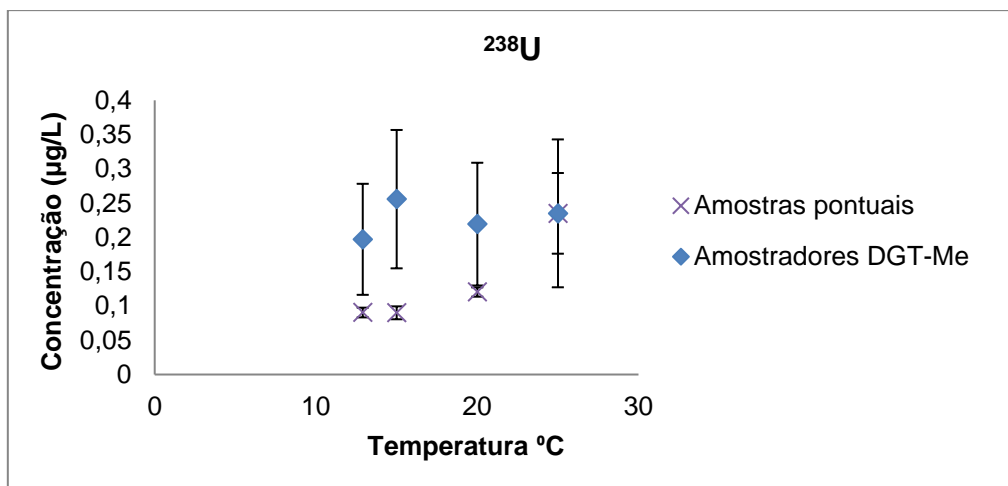


Figura 3.29 - Comparação da concentração de urânio obtida através de amostras pontuais e utilizando amostradores passivos (leitura em ICP-MS).

Concentração utilizando DGT-As

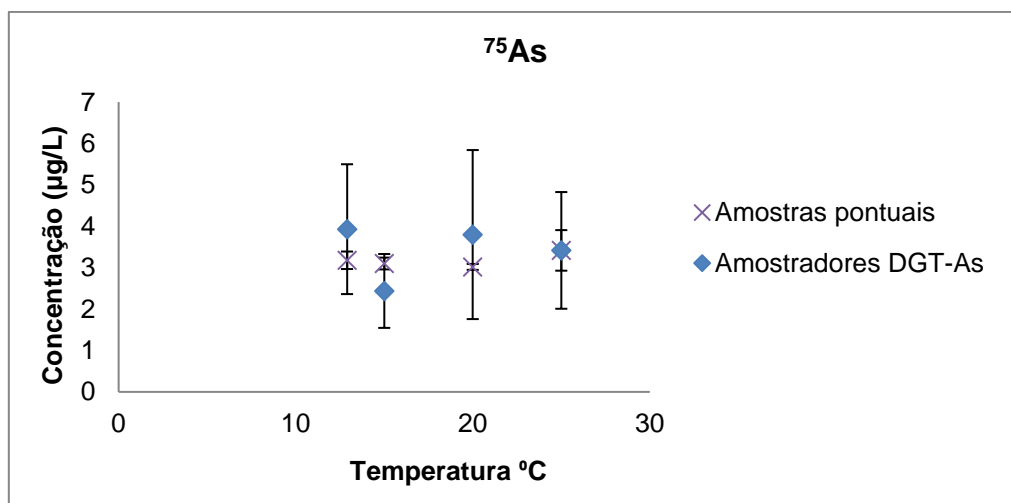


Figura 3.30 - Comparação da concentração de arsênio obtida através de amostras pontuais e utilizando amostradores passivos (leitura em ICP-MS).

Como se pode observar nos gráficos, o uso de amostradores passivos está associado a resultados de maior incerteza quando comparados com a amostragem pontual.

Apesar das discrepâncias observadas durante a determinação de coeficientes de difusão, em condições controladas, as concentrações obtidas são na sua maioria semelhantes às das decorrentes da amostragem pontual.

3.6.2 Ensaio no Reservatório dos Olivais

A primeira matriz real a ser analisada foi a água para consumo humano do reservatório dos Olivais, em Lisboa. No total foram recolhidas onze amostras pontuais, das quais três estão indicadas na tabela 3.13. A média da temperatura registada no reservatório foi de 12,9°C e de pH foi 8.

Calculou-se a concentração de metais presentes no reservatório dos Olivais, utilizando os coeficientes de difusão da tabela 3.11, e comparou-se a concentração com a obtida via amostragem pontual. A maioria dos metais analisados apresentou valores abaixo do limite de quantificação, pelo que só foi efetuada a comparação para cinco metais (Ni, Cu, Zn, Sr e Ba).

A tabela 3.13 e os gráficos 3.31 – 3.35 apresentam as concentrações de metais na água do reservatório dos Olivais na amostragem pontual e através de amostradores passivos DGT.

Tabela 3.13 - Concentração de metais na água do reservatório dos Olivais; três colheitas pontuais e utilizando amostradores passivos.

Metais		Amostras Pontuais (µg/L)			Amostradores Passivos (µg/L)
		Colheita Inicial	Colheita Intermédia	Colheita Final	
⁶⁰ Ni	Total	1,0	0,7	0,8	0,8
	Dissolvido	1,0	0,7	0,8	
⁶⁵ Cu	Total	1,4	1,5	1,4	1,4
	Dissolvido	1,3	1,5	1,3	
⁶⁶ Zn	Total	6,3	6,7	6,8	3,8
	Dissolvido	5,3	6,1	6,6	
⁸⁸ Sr	Total	22,7	23,7	23,1	0,7
	Dissolvido	22,4	23,8	22,8	
¹³⁷ Ba	Total	5,4	5,7	5,6	0,2
	Dissolvido	5,3	5,8	5,8	

Concentração utilizando DGT-Me

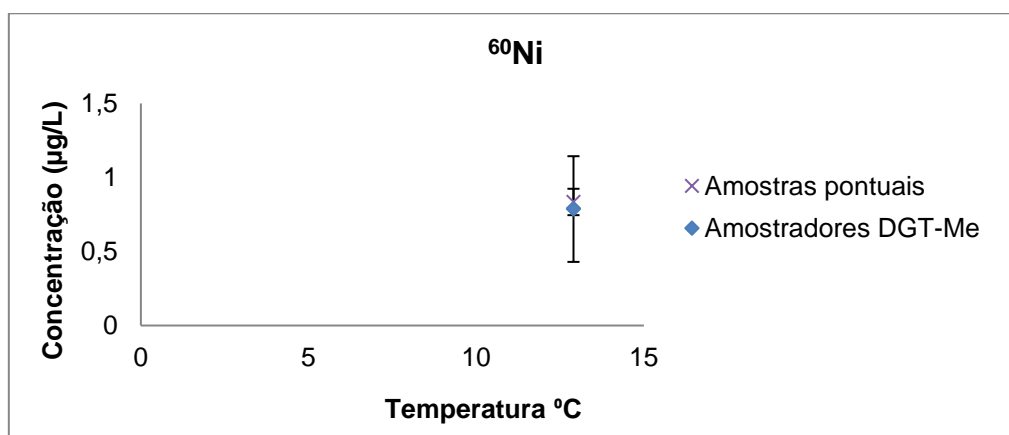


Figura 3.31 - Comparação da concentração de níquel na água do reservatório dos Olivais; nas amostras pontuais e nos amostradores passivos; leitura em ICP-MS.

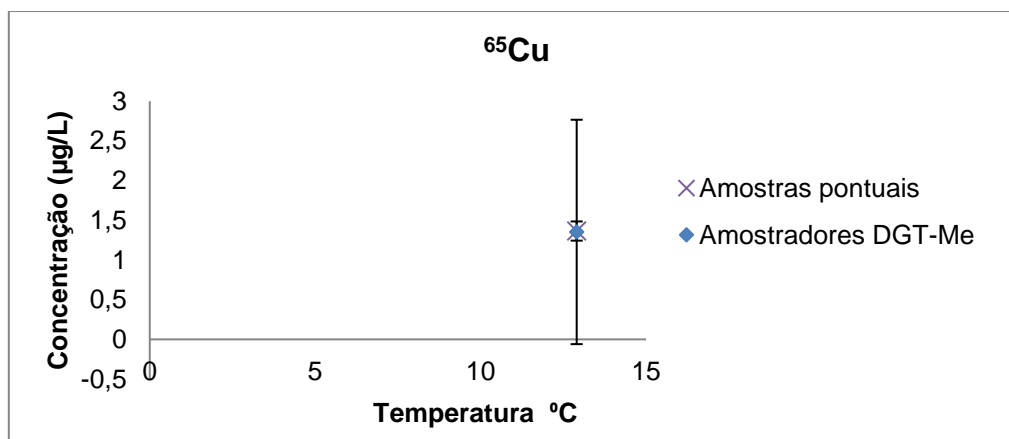


Figura 3.32 - Comparação da concentração de cobre na água do reservatório dos Olivais; nas amostras pontuais e nos amostradores passivos; leitura em ICP-MS.

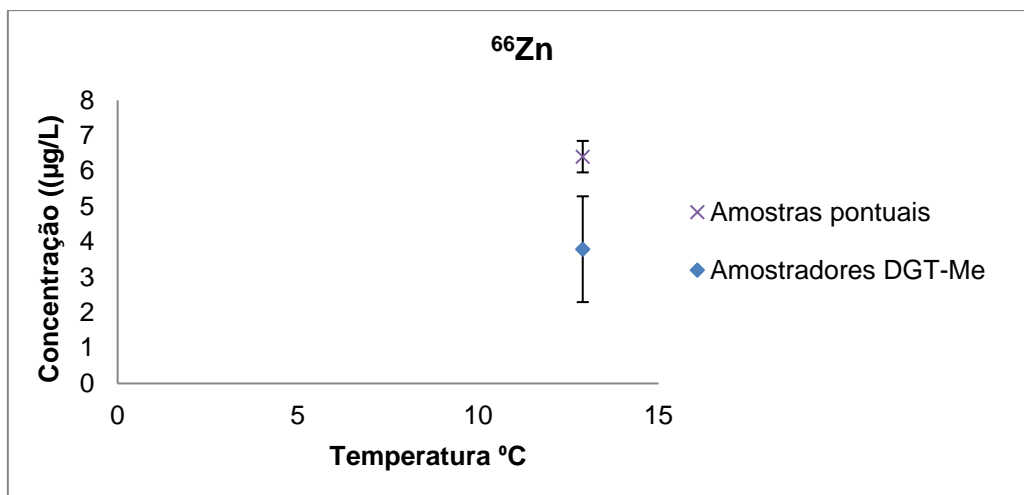


Figura 3.33 - Comparação da concentração de zinco na água do reservatório dos Olivais; nas amostras pontuais e nos amostradores passivos; leitura em ICP-MS.

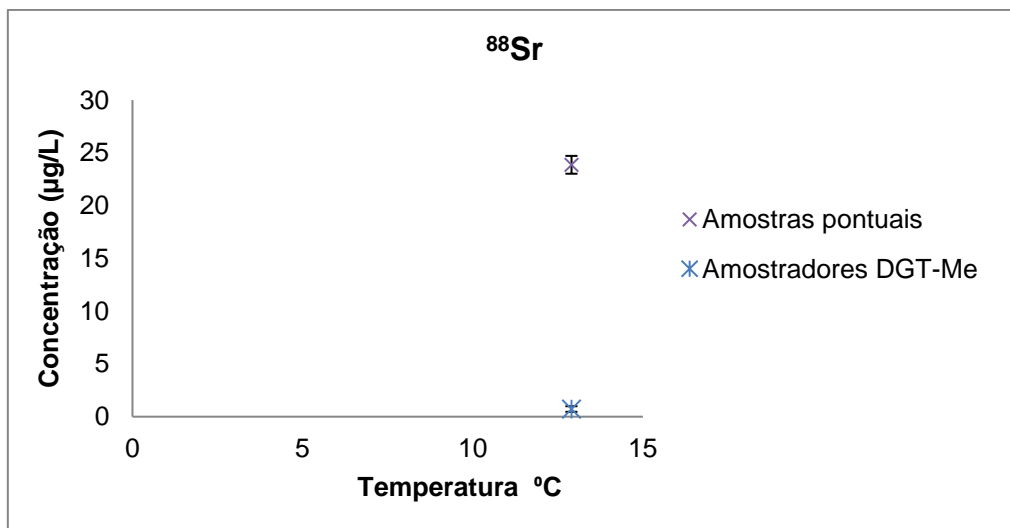


Figura 3.34 - Comparação da concentração de estrôncio na água do reservatório dos Olivais; nas amostras pontuais e nos amostradores passivos; leitura em ICP-MS.

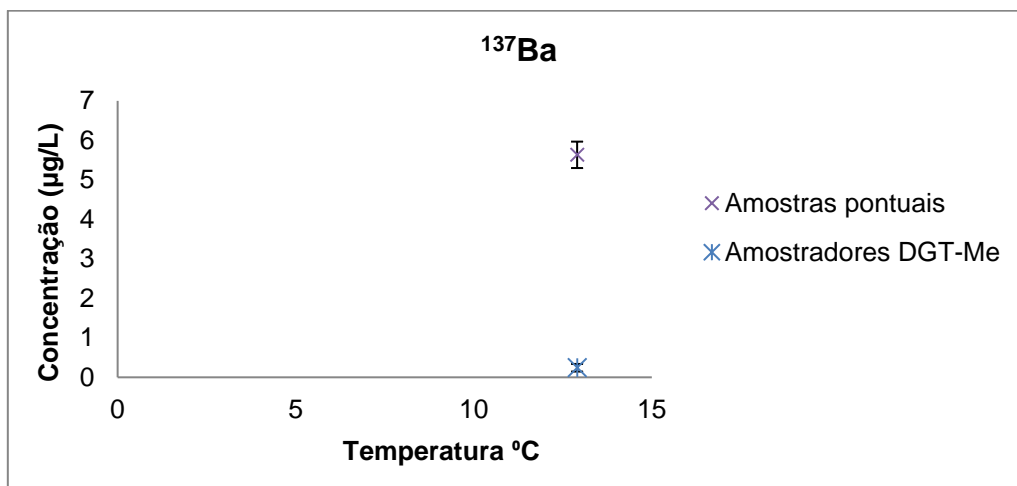


Figura 3.35 - Comparação da concentração de bário na água do reservatório dos Olivais; nas amostras pontuais e nos amostradores passivos; leitura em ICP-MS.

Verificou-se que a concentração de Zn, Sr e Ba é menor nos amostradores passivos DGT do que a da amostragem pontual. Para estes metais os coeficientes de difusão determinados mostraram a maior discrepância quando comparados com os já descritos na literatura.

3.6.3 ETA de Santa Águeda

Analisou-se a água do reservatório da ETA de Santa Águeda através da recolha de três amostras pontuais e da colocação de amostradores passivos DGT. A média da temperatura registada no reservatório de água da ETA foi de 24,1°C e o pH 7,8.

A maioria dos metais analisados apresentou valores abaixo do limite de quantificação, pelo que, a comparação só foi feita para quatro metais (Al, Ni, As e Sr), estando descrita na tabela 3.14 e nos gráficos 3.36 a 3.41.

Tabela 3.14 - Concentração de metais na água da ETA de Santa Águeda: colheitas pontuais e amostradores passivos.

Metais		Amostras Pontuais (µg/L)			Amostradores Passivos (µg/L)
		Colheita Inicial	Colheita Intermédia	Colheita Final	
²⁷ Al	Total	39,2	40,0	36,5	19,5
	Dissolvido	26,2	33,2	34,4	
⁶⁰ Ni	Total	0,4	0,4	0,4	0,4
	Dissolvido	0,4	0,6	0,9	
⁷⁵ As	Total	1,0	1,3	1,5	0,3
	Dissolvido	1,0	1,2	1,5	
⁸⁸ Sr	Total	25,1	26,1	25,9	0,3
	Dissolvido	23,4	27,0	23,7	

Concentração utilizando DGT-Me

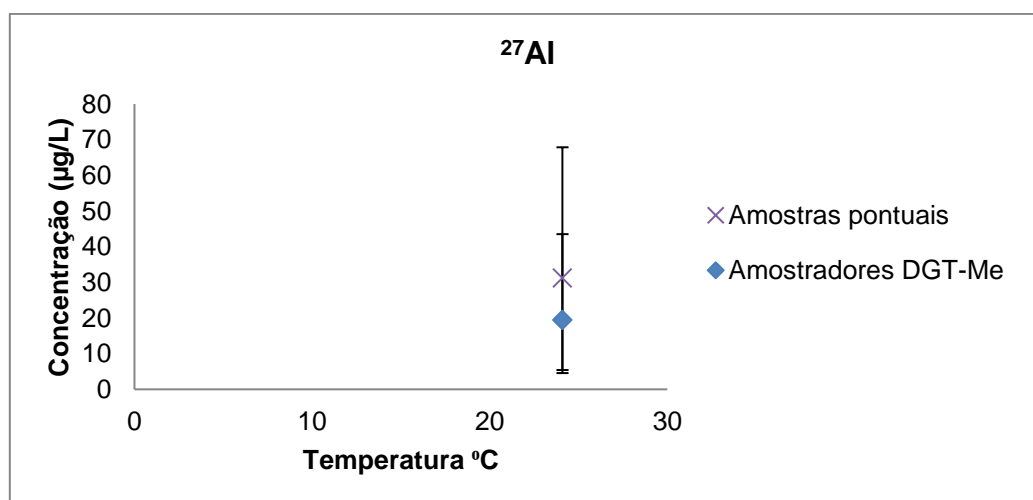


Figura 3.36 – Comparação da concentração de alumínio na água da ETA de Santa Águeda: amostras pontuais e amostradores passivos; leitura em ICP-MS.

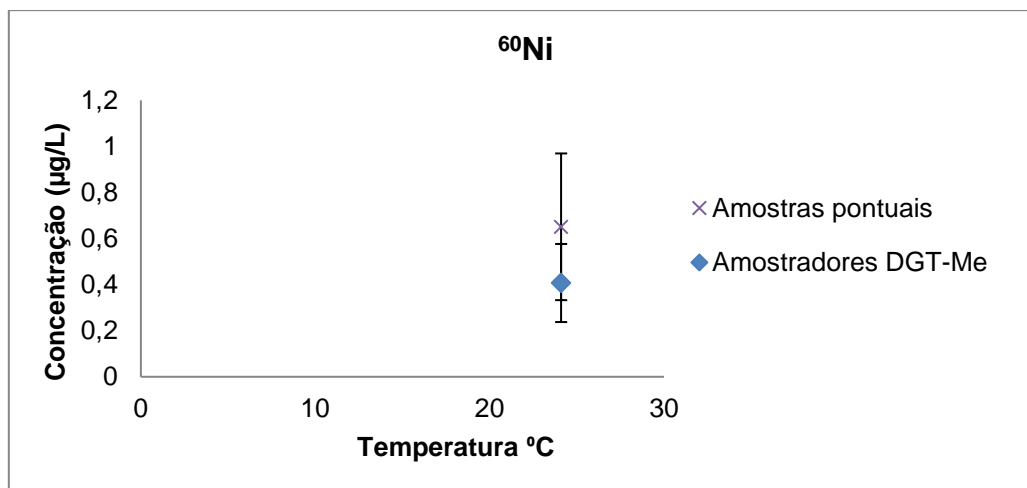


Figura 3.37 - Comparação da concentração de níquel na água da ETA de Santa Águeda: amostras pontuais e amostradores passivos; leitura em ICP-MS.

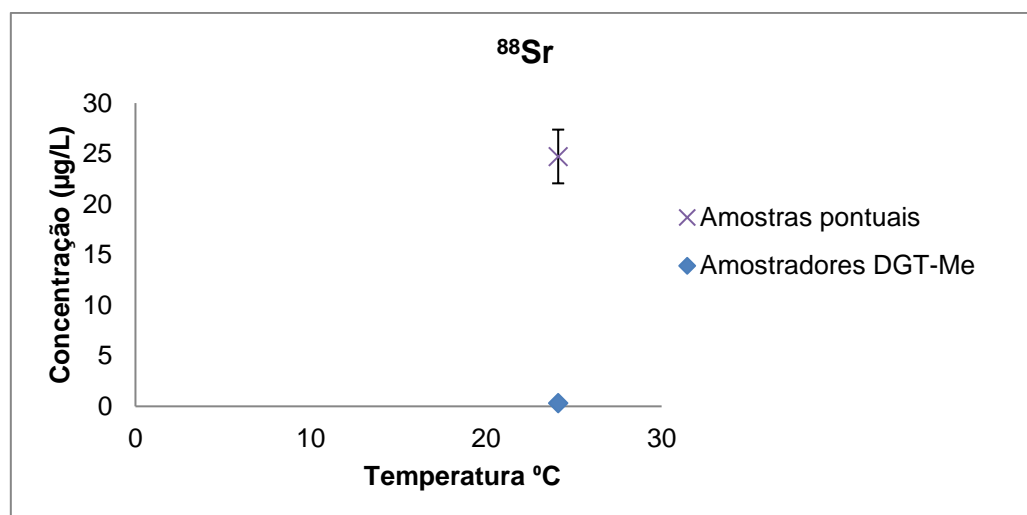


Figura 3.38 - Comparação da concentração de estrôncio na água da ETA de Santa Águeda: amostras pontuais e amostradores passivos; leitura em ICP-MS.

Concentração utilizando DGT-As

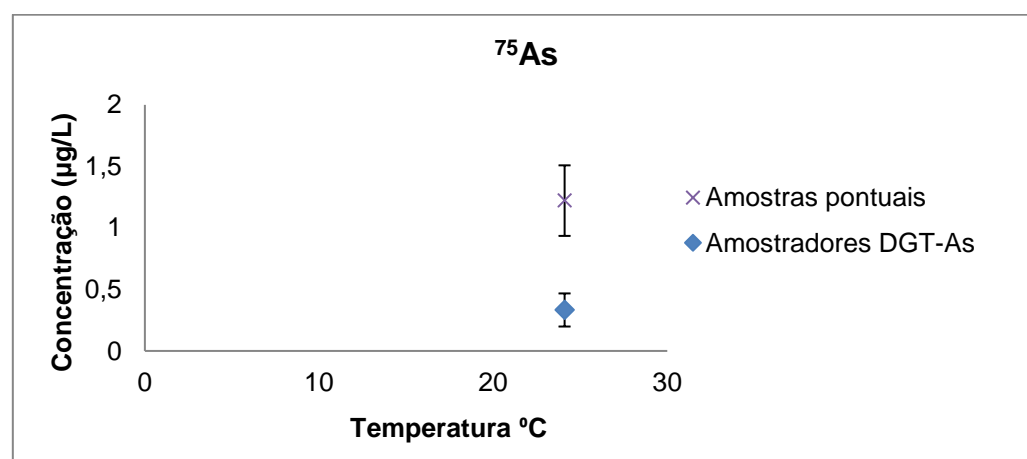


Figura 3.39 - Comparação da concentração de arsênio na água da ETA de Santa Águeda: amostras pontuais e amostradores passivos; leitura em ICP-MS.

Tal como foi observado para os resultados da água do reservatório dos Olivais, a concentração de Sr e As nos amostradores DGT não é coincidente com a das amostras pontuais.

3.6.4 Albufeira de Santa Águeda

Analisou-se a água da albufeira de Santa Águeda através de três amostras pontuais e da colocação de amostradores passivos DGT. A média da temperatura registada na albufeira foi de 25,8°C e o pH 8,2. Para a determinação da concentração de metais foi utilizado o coeficiente de difusão calculado através da equação (22). A maioria dos metais apresentou valores abaixo do limite de quantificação, pelo que, a comparação só foi feita para quatro metais (Al, As e Sr e Ba). Os resultados podem ser visualizados na tabela 3.15 e nos gráficos 3.36 a 3.41.

Tabela 3.15 - Concentração de metais na água da albufeira de Santa Águeda: colheitas pontuais e amostradores passivos.

Metais		Amostras Pontuais (µg/L)			Amostradores Passivos (µg/L)
		Colheita Inicial	Colheita Intermédia	Colheita Final	
²⁷ Al	Total	58,7	28,2	27,6	20,5
	Dissolvido	10,1	17,6	9,8	
⁷⁵ As	Total	4,9	4,5	4,9	6,7
	Dissolvido	3,6	4,4	3,9	
⁸⁸ Sr	Total	11,8	11,9	11,3	5,2
	Dissolvido	11,4	11,5	11,1	
¹³⁷ Ba	Total	3,1	0,9	1,4	0,6
	Dissolvido	2,0	0,6	0,7	

Concentração utilizando DGT-Me

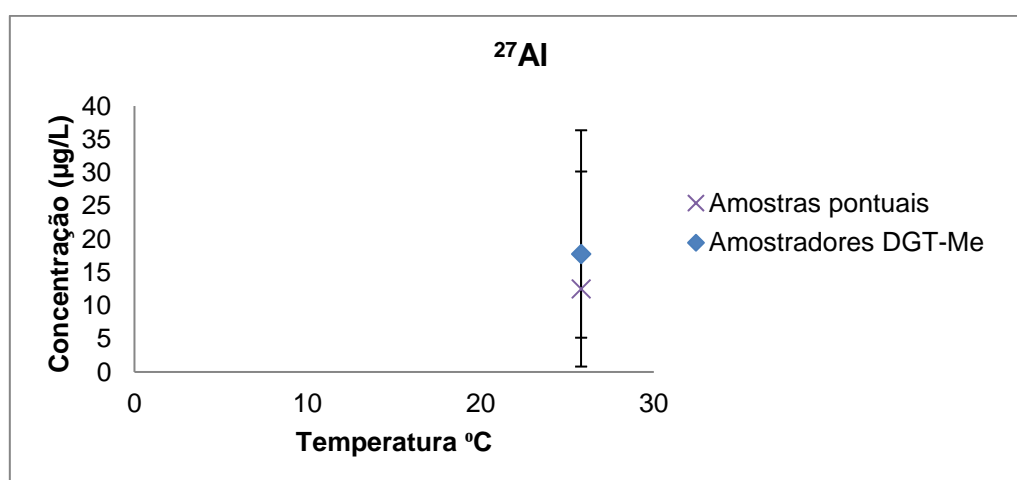


Figura 3.40 – Comparação da concentração de alumínio na água da albufeira de Santa Águeda: amostras pontuais e amostradores passivos; leitura em ICP-MS.

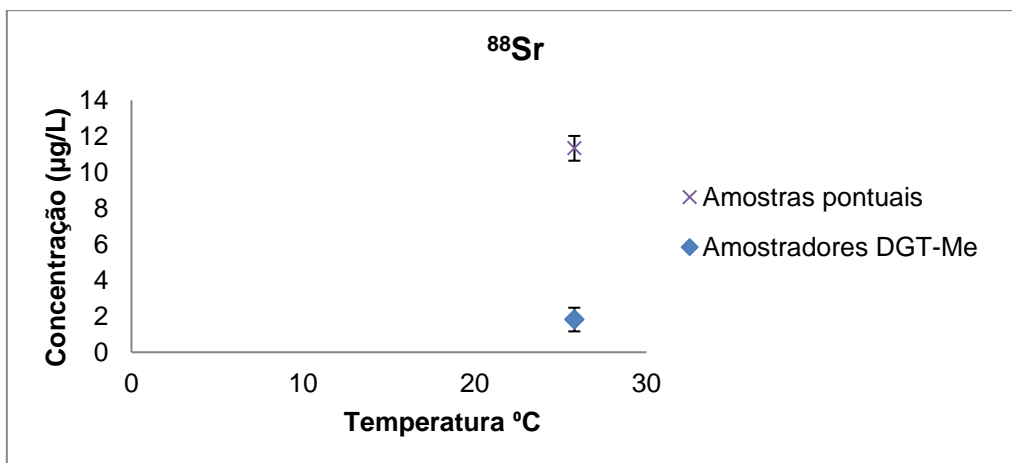


Figura 3.41 - Comparação da concentração de estrôncio na água da albufeira de Santa Águeda: amostras pontuais e amostradores passivos; leitura em ICP-MS.

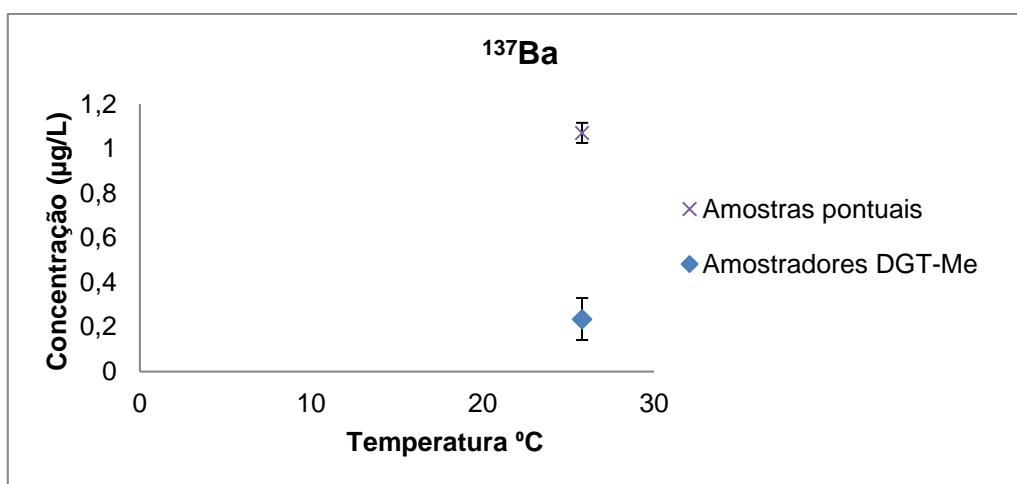


Figura 3.42 - Comparação da concentração de bário na água da albufeira de Santa Águeda: amostras pontuais e amostradores passivos; leitura em ICP-MS.

Concentração utilizando DGT-As

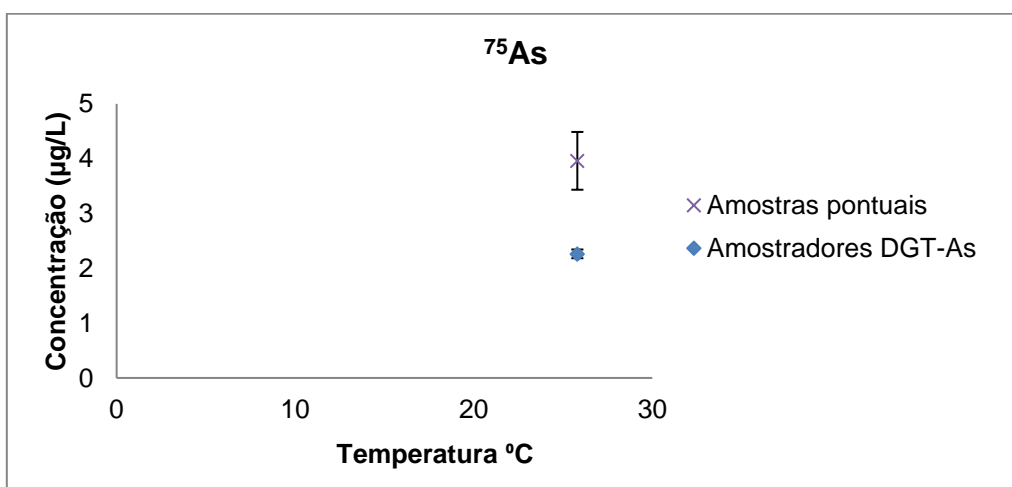


Figura 3.43 - Comparação da concentração de arsênio na água da albufeira de Santa Águeda: amostras pontuais e amostradores passivos; leitura em ICP-MS.

Sendo a água da albufeira de Santa Águeda uma matriz real onde os constituintes biológicos, químicos e físicos variam ao longo do tempo (pH, fluxo, temperatura, etc.), é de esperar que os resultados obtidos difiram dos registados em laboratório.

Nas figuras 3.41, 3.42 e 3.43, observam-se novamente diferenças nas concentrações de Ba, Sr e As obtidas por amostragem pontual e via amostradores passivos.

4 Conclusão

Este estudo teve como principal objectivo avaliar a utilização de amostradores passivos DGT para monitorizar metais em águas superficiais e águas para consumo humano.

O polímero acrilonitrilo butadieno estireno (ABS) mostrou-se adequado quanto à sua utilização em suportes de amostradores passivos DGT.

A digestão utilizando água acidificada com ácido nítrico e peróxido de hidrogénio em digestor por microondas mostrou ser o melhor método para extracção de metais da resina Chelex-100. O procedimento foi validado para 19 metais (lítio, berílio, vanádio, crómio, manganês, cobalto, níquel, cobre, arsénio, selénio, estrôncio, molibdénio, prata, cádmio, antimónio, bário, tálio, chumbo e urânio) utilizando ICP-MS e para alumínio e zinco utilizando ICP-OES como método analítico.

A determinação dos coeficientes de difusão sugere que estes não são apenas dependentes da temperatura, podendo existir outros factores de influência (por exemplo, pH, força iónica, afinidade da resina para cada metal, estado de oxidação dos metais, volume da matriz utilizada, concentração de metais na matriz e fluxo da mesma). Tornou-se importante a avaliação da importância de cada factor.

A amostragem por DGT apresentou boa repetibilidade entre resultados obtidos em laboratório, pelo mesmo analista, com o mesmo equipamento, tal como tinha sido observado por Lucas⁷³.

O estudo comparativo entre a utilização de amostragem pontual e amostragem passiva evidenciou uma baixa concordância entre resultados. À semelhança de Davison e Zhang¹²⁷, verificou-se que nas medições realizadas com DGT em matrizes complexas a quantificação apresentou variações cujos factores contributivos é necessário determinar. A maioria dos metais analisados apresentou concentrações inferiores ao limite de quantificação, facto que limitou o número de metais para os quais foi possível o estudo comparativo da concentração utilizando amostragem pontual e passiva. Recomenda-se que em estudos posteriores os amostradores passivos sejam expostos durante períodos de tempo superiores (>15 dias) para aumentar a concentração dos analitos.

Observou-se a detecção de crómio, selénio e antimónio para além do arsénio ao utilizar amostradores passivos DGT-As; no entanto, é necessária a realização de mais estudos nomeadamente para a determinação dos seus coeficientes de difusão.

A maior vantagem da utilização de amostradores passivos parece residir na capacidade de concentrar selectivamente analitos possibilitando a especiação de metais sem necessidade de filtração. A amostragem passiva por DGT revelou-se uma ferramenta útil para a monitorização qualitativa de metais em águas superficiais como técnica complementar à amostragem pontual. Porém, é ainda necessário aprofundar o seu estudo nas águas para consumo humano antes de aplicá-la para fins de controlo de qualidade de água.

Bibliografia

1. Bruni, J., Carlos, S. & Paulo. A água e a vida. *Tempo Soc. Rev. Sociol. USP* **5**, 53–65 (1993).
2. Nelson, D. L. & Cox, M. M. *Lehninger: Principles of Biochemistry*. (W. H. Freeman and Company, 2013).
3. Popkin, B. M., D'Anci, K. E. & Rosenberg, I. H. Water, hydration, and health. *Nutr. Rev.* **68**, 439–58 (2010).
4. O' Grady, P. Thales of Miletus. *Internet Encyclopedia of Philosophy*
5. Campbell, G. Empedocles. *Internet Encyclopedia of Philosophy*
6. Chaplin, M. Water: a Brief Early History of its Science. Available at: <http://www1.lsbu.ac.uk/water/water.html>. (Accessed: 1st October 2017)
7. Chaplin, M. Do we underestimate the importance of water in cell biology? *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* (2006). doi:10.1038/nrm2021
8. Protecting Our Drinking Water. *EPA Journal* **12**, (1986).
9. *Guidelines for Drinking-water Quality FOURTH EDITION WHO Library Cataloguing-in-Publication Data. World Health Organization* (WHO Press, 2011).
10. WHO. Drinking Water. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs391/en/>. (Accessed: 20th May 2017)
11. Lenntech B.V. History of drinking water treatment. Available at: <https://www.lenntech.com/processes/disinfection/history/history-drinking-water-treatment.htm>. (Accessed: 16th March 2017)
12. APEC Water Systems. The History of Clean Drinking Water. Available at: <http://www.freedrinkingwater.com/resource-history-of-clean-drinking-water.htm>. (Accessed: 16th March 2017)
13. APA. Água para consumo humano | Relatório do Estado do Ambiente. Available at: <https://rea.apambiente.pt/content/água-para-consumo-humano>. (Accessed: 2nd February 2018)
14. Midões, C. & Fernandes, J. *Água Subterrânea - conhecer para proteger e preservar*. (GrafTime, 2001).
15. EPAL - Empresa Portuguesa das Águas Livres, SA. Available at: <http://www.epal.pt/EPAL/menu/epal/quem-somos>. (Accessed: 6th November 2016)
16. Águas do Vale do Tejo :: Atividade. Available at: <http://www.sanest.pt/index.php/pt/menu/atividade/>. (Accessed: 6th November 2016)
17. EPAL - Empresa Portuguesa das Águas Livres, SA. Available at: <http://www.epal.pt/EPAL/menu/água>. (Accessed: 6th November 2016)
18. Templeton, D. M. *et al.* Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, structural aspects, and methodological approaches (IUPAC Recommendations 2000). *Pure Appl. Chem.* **72**, 1453–1470 (2000).
19. Introduction to the new EU Water Framework Directive - Environment - European Commission. Available at: http://ec.europa.eu/environment/water/water-framework/info/intro_en.htm. (Accessed: 26th May 2017)
20. Parlamento Europeu e Conselho da União Europeia. *Directiva 98/83/CE*. 32–54 (Jornal Oficial

- da União Europeia, 1998).
21. APA. Estado das águas. Available at: <https://www.apambiente.pt/index.php?ref=16&subref=7&sub2ref=875>. (Accessed: 25th May 2017)
 22. Parlamento Europeu e Conselho da União Europeia. *Regulamento REACH n.º 1907/2006*. (Jornal Oficial da União Europeia, 2016).
 23. European Commission. Drinking water legislation. Available at: http://ec.europa.eu/environment/water/water-drink/legislation_en.html. (Accessed: 26th May 2017)
 24. EPAL. Legislação Aplicável. Available at: <http://www.epal.pt/EPAL/menu/água/controlo-da-qualidade-da-água/legislação-aplicável>. (Accessed: 26th May 2017)
 25. Ministério do Ambiente do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional. *Decreto Lei n.º 152/2017*. (Diário da República n.º 235/2017, Série I de 2017-12-07, 2017).
 26. Ministério do Ambiente Ordenamento do Território e Energia. *Decreto-Lei n.º 218/2015*. (Diário da República n.º 196/2015, Série I de 2015-10-07, 2015).
 27. Procuradoria-Geral Distrital de Lisboa. Lei n.º 58/2005, de 29 de Dezembro. Available at: http://www.pgdlisboa.pt/leis/lei_mostra_articulado.php?nid=1191&tabela=leis. (Accessed: 5th December 2017)
 28. Parlamento Europeu e Conselho da União Europeia. *Directiva 2008/105/CE. Jornal Oficial da União Europeia* 84–97 (2008).
 29. Ministério do Ambiente. *Decreto-Lei n.º 76/2016*. (Diário da República n.º 215/2016, Série I de 2016-11-09, 2016).
 30. APA. Plano Nacional da Água. Available at: <https://www.apambiente.pt/index.php?ref=16&subref=7&sub2ref=9&sub3ref=833>. (Accessed: 25th May 2017)
 31. Strathern, P. *O sonho de Mendeleiev: a verdadeira história da química*. (Jorge Zahar Editor, 2010).
 32. metal in artigos de apoio Infopédia. *Porto Editora* Available at: [https://www.infopedia.pt/\\$metal](https://www.infopedia.pt/$metal). (Accessed: 5th June 2017)
 33. Jaishankar, M., Tseten, T., Anbalagan, N., Mathew, B. B. & Beeregowda, K. N. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdiscip. Toxicol.* **7**, 60–72 (2014).
 34. History of Metals Timeline Infographic. Available at: <http://www.makin-metals.com/about/history-of-metals-infographic/>. (Accessed: 28th November 2017)
 35. Luís, S. I. A. Validação de um método de ensaio para análise de metais em águas, por Espectrometria de Massa com Plasma Indutivo Acoplado ICP-MS. (Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, 2006).
 36. Bertini, I., Gray, H., Stiefel, E. & Valentine, S. E. *Biological Inorganic Chemistry: Structure and Reactivity*. (University Science Books, 2007).
 37. *Handbook of Elemental Speciation Techniques and Methodology*. (John Wiley & Sons Ltd., 2003).

38. Sunda, W. *The relationship between cupric ion activity and the toxicity of copper to phytoplankton*. (Massachusetts Institute of Technology and Woods Hole Oceanographic Institution, 1975). doi:10.1575/1912/1275
39. Andrew, R. W., Biesinger, K. E. & Glass, G. E. Effects of inorganic complexing on the toxicity of copper to *Daphnia magna*. *Water Res.* **11**, 309–315 (1977).
40. Flemming, C. A. & Trevors, J. T. Copper toxicity and chemistry in the environment: a review. *Water. Air. Soil Pollut.* **44**, 143–158 (1989).
41. Tushara Chaminda, G. G., Nakajima, F., Furumai, H., Kasuga, I. & Kurisu, F. Comparison of metal (Zn and Cu) complexation characteristics of DOM in urban runoff, domestic wastewater and secondary effluent. *Water Sci. Technol.* **62**, 2044 (2010).
42. LI, W., ZHAO, H., TEASDALE, P. & WANG, F. Trace metal speciation measurements in waters by the liquid binding phase DGT device. *Talanta* **67**, 571–578 (2005).
43. Mangal, V., Zhu, Y., Shi, Y. X. & Guéguen, C. Assessing cadmium and vanadium accumulation using diffusive gradient in thin-films (DGT) and phytoplankton in the Churchill River estuary, Manitoba. *Chemosphere* **163**, 90–98 (2016).
44. *Diffusive Gradients in Thin-Films for Environmental Measurements*. (Cambridge University Press, 2016). doi:10.1017/CBO9781316442654
45. Hamelink, J. L. & SETAC (Society). *Bioavailability: physical, chemical, and biological interactions*. (Lewis Publishers, 1994).
46. Florence, T. M. Trace element speciation and aquatic toxicology. *TrAC Trends Anal. Chem.* **2**, 162–166 (1983).
47. Mertz, W. The essential trace elements. *Science* **213**, 1332–8 (1981).
48. Maret, W. The Metals in the Biological Periodic System of the Elements: Concepts and Conjectures. *Int. J. Mol. Sci.* **17**, (2016).
49. Ortner, M., Ramedera, M., Rachbauer, L., Bochmann, G. & Fuchs, W. Bioavailability of essential trace elements and their impact on anaerobic digestion of slaughterhouse waste. *Biochem. Eng. J.* **99**, 107–113 (2015).
50. Caruso, C. S., Biazin, E., Carvalho, F. A. O., Tabak, M. & Bachega, J. F. R. Metals content of *Glossoscolex paulistus* extracellular hemoglobin: Its peroxidase activity and the importance of these ions in the protein stability. *J. Inorg. Biochem.* **161**, 63–72 (2016).
51. DalCorso, G., Manara, A., Piasentin, S. & Furini, A. Nutrient metal elements in plants. *Metallomics* **6**, 1770–88 (2014).
52. Florence, T. The speciation of trace elements in waters. *Talanta* **29**, 345–364 (1982).
53. McCall, A. S. *et al.* Bromine Is an Essential Trace Element for Assembly of Collagen IV Scaffolds in Tissue Development and Architecture. *Cell* **157**, 1380–1392 (2014).
54. Florence, T. The speciation of trace elements in waters. *Talanta* **29**, 345–364 (1982).
55. Sunda, W. G. & Huntsman, S. A. Interactions among Cu^{2+} , Zn^{2+} , and Mn^{2+} in controlling cellular Mn, Zn, and growth rate in the coastal alga *Chlamydomonas*. *Limnol. Oceanogr.* **43**, 1055–1064 (1998).
56. Gottlieb, B., Gilbert, S. G. & Evans, L. G. *Coal Ash: The toxic threath to our health and*

- environment*. (Physicians for Social Responsibility, 2010).
57. Madrid, Y. & Zayas, Z. P. Water sampling: Traditional methods and new approaches in water sampling strategy. *TrAC Trends Anal. Chem.* **26**, 293–299 (2007).
 58. Namieśnik, J. & Szefer, P. *Analytical measurements in aquatic environments*. (CRC Press, 2010).
 59. *PT 02.01- Controlo da Qualidade na Amostragem*.
 60. Markich, S. J., Brown, P. L., Batley, G. E., Apte, S. C. & Stauber, J. L. Incorporating metal speciation and bioavailability into water quality guidelines for protecting aquatic ecosystems. (2001).
 61. Buffle, J. & Leppard, G. G. Characterization of Aquatic Colloids and Macromolecules. 1. Structure and Behavior of Colloidal Material. *Environ. Sci. Technol.* **29**, 2169–2175 (1995).
 62. Buffle, J. & Leppard, G. G. Characterization of Aquatic Colloids and Macromolecules. 2. Key Role of Physical Structures on Analytical Results. *Environ. Sci. Technol.* **29**, 2176–2184 (1995).
 63. Benes, P. & Steinnes, E. In situ dialysis for the determination of the state of trace elements in natural waters. *Water Res.* **8**, 947–953 (1974).
 64. DOCEKALOVA, H. & DIVIS, P. Application of diffusive gradient in thin films technique (DGT) to measurement of mercury in aquatic systems. *Talanta* **65**, 1174–1178 (2005).
 65. Alexa, N., Zhang, H. & Lead, J. R. Development of a miniaturized diffusive gradients in thin films (DGT) device. *Anal. Chim. Acta* **655**, 80–85 (2009).
 66. Shiva, A. H. *et al.* In situ evaluation of DGT techniques for measurement of trace metals in estuarine waters: a comparison of four binding layers with open and restricted diffusive layers. *Environ. Sci. Process. Impacts* **18**, 51–63 (2016).
 67. Meylan, S., Odzak, N., Behra, R. & Sigg, L. Speciation of copper and zinc in natural freshwater: comparison of voltammetric measurements, diffusive gradients in thin films (DGT) and chemical equilibrium models. *Anal. Chim. Acta* **510**, 91–100 (2004).
 68. Sherwood, J. E. *et al.* Deployment of DGT units in marine waters to assess the environmental risk from a deep sea tailings outfall. *Anal. Chim. Acta* **652**, 215–223 (2009).
 69. Driscoll, S. K., Shock, S. & Pietari, J. Passive Samplers and Environmental Sensors: Applications in Strategic Site Management. *Environ. Perspect.* **2**, (2016).
 70. Knutsson, J. Passive sampling for monitoring of inorganic pollutants in water.
 71. Leermakers, M. *et al.* DGT as a useful monitoring tool for radionuclides and trace metals in environments impacted by uranium mining: Case study of the Sagnes wetland in France. *Chemosphere* **155**, 142–151 (2016).
 72. Zhang, H. & Davison, W. Performance Characteristics of Diffusion Gradients in Thin Films for the in Situ Measurement of Trace Metals in Aqueous Solution. *Anal. Chem.* **67**, 3391–3400 (1995).
 73. Lucas, A. R., Salmon, S. U., Rate, A. W., Larsen, S. & Kilminster, K. Spatial and temporal distribution of Au and other trace elements in an estuary using the diffusive gradients in thin films technique and grab sampling. *Geochim. Cosmochim. Acta* **171**, 156–173 (2015).
 74. Davison, W. & Zhang, H. In situspeciation measurements of trace components in natural waters

- using thin-film gels. *Nature* **367**, 546–548 (1994).
75. Øyvind Aaberg Garmo, *,†, Oddvar Røyset, *,‡, Eiliv Steinnes, † and & Flaten†, T. P. Performance Study of Diffusive Gradients in Thin Films for 55 Elements. (2003). doi:10.1021/AC026374N
 76. Shaun Scally, William Davison, and & Zhang*, H. In Situ Measurements of Dissociation Kinetics and Labilities of Metal Complexes in Solution Using DGT. (2003). doi:10.1021/ES0202006
 77. Zhang, H. & Davison, W. Diffusional characteristics of hydrogels used in DGT and DET techniques. *Anal. Chim. Acta* **398**, 329–340 (1999).
 78. Zhang, H. *et al.* Use of diffusive gradients in thin-films for studies of chemical speciation and bioavailability. *Environ. Chem.* **12**, 85 (2015).
 79. Davison, W. *et al.* Progress in understanding the use of diffusive gradients in thin films (DGT) ? back to basics. *Environ. Chem.* **9**, 1 (2012).
 80. Sean Mason, *,†, Rebecca Hamon, ‡, Annette Nolan, §, Hao Zhang, ⊥ and & Davison⊥, W. Performance of a Mixed Binding Layer for Measuring Anions and Cations in a Single Assay Using the Diffusive Gradients in Thin Films Technique. (2005). doi:10.1021/AC0507183
 81. Panther, J. G., Bennett, W. W., Welsh, D. T. & Teasdale, P. R. Simultaneous Measurement of Trace Metal and Oxyanion Concentrations in Water using Diffusive Gradients in Thin Films with a Chelex–Metsorb Mixed Binding Layer. *Anal. Chem.* **86**, 427–434 (2014).
 82. Panther, J. G., Downard, A. J., Stillwell, K. P. & Powell, K. J. Development and application of the diffusive gradients in thin films technique for the measurement of total dissolved inorganic arsenic in waters. *Anal. Chim. Acta* **622**, 133–142 (2008).
 83. Bio-Rad Laboratories. *Chelex® 100 and Chelex 20 Chelating Ion Exchange Resin Instruction Manual*.
 84. Tanaka, T. Gels. *Scientific American* **244**, 124–138 (1981).
 85. Nyein Aung, N., Nakajima, F. & Furumai, H. Trace metal speciation during dry and wet weather flows in the Tama River, Japan, by using diffusive gradients in thin films (DGT). *J. Environ. Monit.* **10**, 219–230 (2008).
 86. Puy, J. *et al.* Measurement of Metals Using DGT: Impact of Ionic Strength and Kinetics of Dissociation of Complexes in the Resin Domain. *Anal. Chem.* **86**, 7740–7748 (2014).
 87. Poliacrilamida. Available at: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/search?term=9003-05-8&interface=CAS>
No.&N=0&mode=partialmaxfocus=product&lang=pt®ion=PT&focus=product&gclid=EAlaIQo
bChMI9Ovhi-ai1wIVwR4bCh3QIQ5EEAAYAiAAEgKspFD_BwE. (Accessed: 3rd November 2017)
 88. ABS. Available at:
https://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB8405764_EN.htm. (Accessed: 3rd November 2017)
 89. American Public Health Association, American Water Works Association & Water Environment Federation. *Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater*. (Centennial Edition, 2005).

90. Maria Catalina, A.-D. laTorre, Pierre-Yves, B. & André, T. In situ measurement of trace metals in lakewater using the dialysis and DGT techniques. *Anal. Chim. Acta* **418**, 53–68 (2000).
91. Reza Sangi, M., Halstead, M. J. & Hunter, K. A. Use of the diffusion gradient thin film method to measure trace metals in fresh waters at low ionic strength. *Anal. Chim. Acta* **456**, 241–251 (2002).
92. Peters, A. J., Zhang, H. & Davison, W. Performance of the diffusive gradients in thin films technique for measurement of trace metals in low ionic strength freshwaters. *Anal. Chim. Acta* **478**, 237–244 (2003).
93. Kent W. Warnken, *, Hao Zhang, and & Davison, W. Trace Metal Measurements in Low Ionic Strength Synthetic Solutions by Diffusive Gradients in Thin Films. (2005). doi:10.1021/AC050045O
94. Atkins, P. W. (Peter W. & De Paula, J. *Elements of physical chemistry*. (Oxford University Press, 2009).
95. Lide, D. R. & Kehiaian, H. V. (Henry V. . *CRC handbook of thermophysical and thermochemical data*. (CRC Press, 1994).
96. Li, Y.-H. & Gregory, S. Diffusion of ions in sea water and in deep-sea sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta* **38**, 703–714 (1974).
97. Scally, S., Davison, W. & Zhang, H. Diffusion coefficients of metals and metal complexes in hydrogels used in diffusive gradients in thin films. *Anal. Chim. Acta* **558**, 222–229 (2006).
98. Pichette, C., Zhang, H. & Sauvé, S. Using diffusive gradients in thin-films for in situ monitoring of dissolved phosphate emissions from freshwater aquaculture. *Aquaculture* **286**, 198–202 (2009).
99. Uher, E., Zhang, H., Santos, S., Tusseau-Vuillemin, M.-H. & Gourlay-Francé, C. Impact of Biofouling on Diffusive Gradient in Thin Film Measurements in Water. *Anal. Chem.* **84**, 3111–3118 (2012).
100. ME 29.06 - *Determinação de Metais em Águas por Espectrometria de Emissão com Plasma Indutivo Acoplado (ICP-OES)*. (2016).
101. Thomas, R. A Beginner's Guide to ICP-MS. *Spectroscopy Tutorial* (2003).
102. Thomas, R. *Practical Guide to ICP-MS - A Tutorial for Beginners*. (CRC Press, 2013).
103. Richter, R. C., Nóbrega, J. A. & Pirola, C. *Think Blank - Clean Chemistry Tools for Atomic Spectroscopy*. (Milestone Press, 2016).
104. ISO 17294-1:2004 - Water quality -- Application of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) -- Part 1: General guidelines. (2004).
105. Evans, E. H. & Royal Society of Chemistry (Great Britain). *Inductively coupled and microwave induced plasma sources for mass spectrometry*. (Royal Society of Chemistry, 1995).
106. Montaser, A. *Inductively coupled plasma mass spectrometry*. (J. Wiley, 1998).
107. *Quadrupole Mass Spectrometry and its applications*. (Elsevier Scientific Publishing Company, 1976).
108. PT 61.00 - *Procedimento para Implementação e Validação de Métodos de Ensaio para Caracterização de Metais em Produtos Químicos usados no Tratamento de Água por ICP-MS*.

- (2014).
109. *ME 56.06 - Determinação de Metais em Água por Espectrometria de Massa com Plasma Indutivo Acoplado (ICP-MS)*. (2013).
 110. *Guia RELACRE 3 - Validação de Resultados em Laboratórios Químicos*. (1996).
 111. ISO 5725-1:1994 - Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results -- Part 1: General principles and definitions. (1994).
 112. *PT 20.00 - Implementação e Validação de Métodos Físico-Químicos*. (2013).
 113. *Guia RELACRE 13 - Validação de Métodos Internos de Ensaio em Análise Química*. (RELACRE, 2000).
 114. *Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods - A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*. (2014).
 115. *ISO 8466-1:1990 - Water quality -- Calibration and evaluation of analytical methods and estimation of performance characteristics*. (International Organization for Standardization, 1990).
 116. Thompson, M., Ellison, S. L. R. & Wood, R. Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report). *Pure Appl. Chem.* **74**, 835–855 (2002).
 117. *Eurachem/CITAC Guide: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement*. (2012).
 118. A. D. McNaught and A. Wilkinson. *IUPAC. Compendium of Chemical Terminology*. (Blackwell Scientific Publications, 1997).
 119. *Eurachem/EUROLAB/ CITAC/Nordtest/AMC Guide: Measurement uncertainty arising from sampling: a guide to methods and approaches Eurachem*. (2007).
 120. *IPAC: Guia para a Quantificação de Incerteza em Ensaio Químicos OGC007*. (Instituto Português de Acreditação, 2007).
 121. ISO 11352:2012 - Water quality -- Estimation of measurement uncertainty based on validation and quality control data. *International Organization for Standardization* (2012). Available at: <https://www.iso.org/standard/50399.html>. (Accessed: 24th November 2017)
 122. QUERCUS. Plataforma de Defesa da Albufeira de Santa Águeda / Marateca. Available at: <http://www.quercus.pt/comunicados/2017/maio/5246-plataforma-de-defesa-da-albufeira-de-santa-agueda-marateca-apresenta-queixa-por-crime-ambiental-no-ministerio-publico>. (Accessed: 14th March 2018)
 123. Chelex® 100 Resin. *Bio-Rad Laboratories* (2016). Available at: <http://www.bio-rad.com/en-mx/product/chelex-100-resin>. (Accessed: 27th September 2017)
 124. *ME 38.03 - Digestão de Amostras por Microondas*. (2013).
 125. Concentric Nebulizer. Available at: <https://www.precisionglassblowing.com/product/concentric-nebulizer-k-type-2mlmin-qdac/>. (Accessed: 6th October 2017)
 126. *IL LAQ_EQI.01.01 - Lavagem de Material para ICP-MS*.
 127. Zhang, H. & Davison, W. Direct in situ measurements of labile inorganic and organically bound metal species in synthetic solutions and natural waters using diffusive gradients in thin films. *Anal. Chem.* **72**, 4447–57 (2000).